

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

ZUR FRAGE

DER AKTIVEN UND PASSIVEN

MILZBRANDIMMUNITÄT.



HABILITATIONSSCHRIFT

ZUR

ERLANGUNG DER VENIA DOCENDI

EINER

HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU HALLE A. S.

VORGELEGT VON

DR. GEORG SOBERNHEIM.

HALLE A. S.,
HOFBUCHDRUCKEREI VON C. A. KAEMMERER & CO.
1897.

45

I. Allgemeines.

Die Bestrebungen, auf dem Wege der Schutzimpfung eine wirksame Bekämpfung der Infektionskrankheiten anzubahnen, mussten in dem Augenblicke erneutes Interesse gewinnen, als es der Forschung gelungen war, die Ursache jener Erkrankungen aufzufinden und auf die Existenz gewisser, wohlcharakterisierter Mikroorganismen aus der Klasse der Bakterien zurückzuführen.

Hatte man bereits vor mehr denn 100 Jahren die altbekannte Thatsache, dass einmaliges Ueberstehen gewisser Krankheiten selbst bei mildestem Verlaufe gegen wiederholtes Befallenwerden zu schützen pflegt, für eine der verheerendsten Seuchen, die Pocken, mit glücklichstem Erfolge zu prophylaktischem Eingreifen zu verwerten gewusst, so war mit der Entdeckung der spezifischen Krankheitserreger die Frage der Schutzimpfung von dem Gebiete der groben Empirie auf festeren, wissenschaftlich begründeten Boden gesetzt und vor allem die Möglichkeit gegeben, dem Problem der erworbenen Immunität in seinen geheimnisvollen Vorgängen nun auch auf experimentellem Wege nachzuforschen. Nicht mehr mit Krankheitsstoffen unbekannter Natur hatte man es zu thun, sondern mit Reinkulturen der krankmachenden Bakterien, und, wenn diese günstigen Vorbedingungen nun mit Hülfe des Tierexperimentes Klärung und Förderung der angedeuteten Fragen nach der theoretischen wie praktischen Seite erhoffen liessen, so führte die Verfolgung des Zieles auch thatsächlich, unter Berücksichtigung des von der Natur gewiesenen Weges, alsbald zu verheissungsvollen Ergebnissen. Die von Pasteur zuerst für den Erreger einer Tierinfectionskrankheit (Hühnercholera) ermittelte fundamentale Thatsache, dass man durch geeignete Methoden die Wirkung pathogener Mikroorganismen künstlich abzuschwächen und die letzteren nunmehr als Impfstoff, als „Vaccin", zur Immunisierung empfänglicher Tiere gegen Infektion mit Reinkulturen der virulenten Bakterien zu verwenden vermag, bedeutete den ersten grossen Fortschritt auf diesem Gebiete. Bald reihten sich weitere Beobachtungen an, welche für eine grosse An-

zahl der verschiedensten Infektionen in vollem Umfange jene grundlegenden Versuche bestätigten und den Beweis erbrachten, dass Tieren, welche eine abgeschwächte, nicht tödtliche Infection überstanden hatten, damit nun auch für längere Zeit sichere Immunität verliehen war.

Wenn freilich der Weg, auf welchem man im einzelnen Falle zu diesen Resultaten gelangte, meist nicht in allen Punkten den anfangs von Pasteur präcisierten Bedingungen entsprach, so handelte es sich doch stets nur um mehr oder weniger erhebliche Modifikationen des ursprünglichen Verfahrens, insofern, als alle Versuche sich lediglich durch die Art und Weise unterschieden, in welcher sie den Grundgedanken, die abgeschwächte Bakterienwirkung zu Immunisierungszwecken zu benutzen, zur Ausführung brachten.

In dem Bestreben, die auf wissenschaftlich und experimentell bewährter Grundlage ruhende Entdeckung einer bakteriellen Schutzimpfung weiter auszubauen und durch Entwickelung möglichst einfacher, ungefährlicher und sicher wirkender Methoden zu einem auch praktisch nutzbringenden Verfahren zu gestalten, hatte man bald die Möglichkeit kennen gelernt, Tiere auf die verschiedenste Weise gegen eine Infection zu immunisieren.

Einmal wurde die Vorbehandlung mit Kulturen eingeleitet, welche unter dem Einfluss schädigender Momente, sei es durch Züchtung bei erhöhten Temperaturen oder unter erhöhtem Drucke, sei es durch Einwirkung des Sonnenlichtes, des Sauerstoffes oder sonstiger chemischer Substanzen, in ihrer Pathogenität herabgesetzt und somit dem Prozesse der künstlichen Abschwächung unterworfen worden waren.

Neben dieser auf Pasteur zurückgreifenden Methode käme zweitens die Anwendung völlig abgetödteter Kulturen in Frage; als dritte Methode wäre die Verwendung vollvirulenter Kulturen in geringen, nicht tödtlichen Dosen zu erwähnen, und schliesslich hat man sich auch mit Erfolg der löslichen Giftstoffe der Bakterien, in der Form keimfreier Filtrate, zu Immunisierungszwecken bedient.

Mit der bahnbrechenden Entdeckung Behring's, dass in dem Blute künstlich immunisierter Tiere regelmässig gewisse spezifische Veränderungen auftreten, welche dadurch charakterisiert sind, dass derartiges Blut stark immunisierende Eigenschaften erwirbt, war eine neue und, wie es schien, von den bisher bekannten durchaus verschiedene Art der Immunisierung gegeben. Während bei der Vorbehandlung mit Bakterien oder bakteriellen Producten dem Tierkörper mehr oder weniger erhebliche Giftmengen zugeführt werden — auch abgetödtete Kulturen enthalten, vorwiegend in ihrer Leibessubstanz, sehr resistente Giftstoffe, welche selbst stark eingreifenden Schädigungen widerstehen — erwies sich das Blut bzw. Blutserum

der immunisierten Tiere selbst in grössten Dosen als völlig ungiftig. Dazu kam, dass, im Gegensatz zu den früher geübten Arten der Immunisierung, der durch das Serum immunisierter Thiere verliehene Impfschutz sofort, unmittelbar nach der Injection, in Wirkung trat und somit, unter ganz bestimmten Bedingungen, bei gewissen Infectionen auch die Möglichkeit einer nachträglichen Immunisierung, d. h. einer eigentlichen Heilung, bot. Man gelangte daher zu der Vorstellung, dass in dem ersten Falle der Tierkörper auf die Giftwirkung mit der Erzeugung gewisser Gegengifte, oder, wie man sich allgemeiner ausdrückte, von Antikörpern, spezifischen Schutzstoffen u.. s. w. reagierte, welche bei der Serumimmunisierung nun einfach einem andern Organismus eingepflanzt würden, und sprach daher von einer aktiven, durch Bakterieninjection erworbenen, und einer passsiven, durch das Serum immunisierter Thiere übertragenen Immunität. Für die Richtigkeit dieser Anschauung glaubte man in dem mehr transitorischen Charakter der letzteren Art noch einen weiteren schlagenden Beweis erblicken zu müssen. Dennoch stellte es sich bald heraus, dass die Verhältnisse keineswegs in so einfacher, rein mechanischer Weise durch „aktive“ und „passive“ Immunität erklärt werden könnten. Zwar sind die Bezeichnungen beibehalten worden und noch heute für die Unterscheidung der Bakterien- und Serum-Immunisierung allgemein gebräuchlich, doch kann die ihnen zu Grunde liegende Vorstellung nicht mehr als unbedingt zutreffend angesehen werden, insofern als auch bei der Serumimmunität der Tierkörper keineswegs nur eine passive Rolle zu spielen und gewissermassen als todtes Gefäss die ihm zugeführten, bereits präformierten Schutzstoffe aufzunehmen hat, vielmehr an der geeigneten Verarbeitung und Verwertung der letzteren zweifellos in selbständiger und höchst aktiver Weise beteiligt ist.

Als eine Erscheinung von grundsätzlicher Bedeutung verdient schliesslich die Thatsache hervorgehoben zu werden, dass die spezifischen Schutzstoffe nach allen bisherigen Erfahrungen ein Produkt der erworbenen Immunität darstellen und lediglich im Blute künstlich immunisierter Tiere zur Entstehung gelangen, wo wir sie durch Steigerung der aktiven Immunität in sehr erheblichen Mengen anhäufen können. Dagegen ist es bisher noch in keinem einzigen Falle geglückt, mit dem Blute solcher Tierarten, welche sich gegen irgend eine Infection von Natur refraktär verhalten, anderen Tieren die Eigenschaft spezifischer Immunität zu verleihen.

Wenn in den bisherigen Ausführungen der Charakter der Immunität, der Schutzstoffe u. s. w. stets als ein „spezifischer“ bezeichnet wurde, so geschah dies vor allen Dingen in der Absicht, diesen Zustand scharf zu scheiden von einer anderen Art erhöhter Resistenz, wie sie unter den verschiedensten Bedingungen zu Stande kommen kann. Musste man auch von vornherein erwarten, dass ebenso, wie das Ueberstehen

einer spontanen Erkrankung den Menschen späterhin nur gegen diese eine Krankheit schützt, auch die durch Vorbehandlung mit einer Bakterienart künstlich geschaffene Immunität sich in ganz spezifischer Weise nur gegen die nämliche Infection richten würde, so schienen eine Zeit lang gewisse Beobachtungen dieser Vorstellung zu widersprechen, indem es gelang Tiere durch Behandlung mit einer Reihe der verschiedensten Bakterienarten gegen irgend eine beliebige Infection zu festigen. Diese, Anfangs in hohem Maasse überraschende Erscheinung, welche geeignet war, das Gesetz der Spezifität in bedenklicher Weise zu erschüttern, konnte indessen bald eine befriedigende Erklärung finden und als ein von der spezifisch wirksamen, echten Immunität grundverschiedener Vorgang charakterisiert werden.

Nicht um eine dauernde, mit spezifischen Blutveränderungen einhergehende Umstimmung des Organismus, wie sie das Wesen der Immunität darstellt, handelte es sich in jenen Fällen, vielmehr um eine allgemein gesteigerte Wirksamkeit der natürlichen Abwehrkräfte, um eine Vermehrung der natürlichen Schutzstoffe, der Alexine, ein Erfolg, der, wie man bald erkannte, nicht nur mit bakteriellen Producten, sondern durch eine grosse Zahl der verschiedensten Substanzen erreicht werden konnte. Gewisse Salz- und Eiweisslösungen, Körper aus der Klasse der Proteine und Nucleine, ja selbst scheinbar indifferente Stoffe (Aq. dest., sterile Bouillon u. s. w.) sind im Stande, die natürliche Resistenz des thierischen Organismus für kurze Zeit in höchst energischer Weise zu fördern und den letzteren — wohl hauptsächlich auf dem Wege der Phagocytose — zur wirksamen Bekämpfung der Infectionen zu befähigen. Demgegenüber werden wir den Begriff der Immunität, nach dem Gesagten, ausschliesslich auf jene Form erworbener Unempfänglichkeit beziehen müssen, welche bei streng spezifischem Charakter, sowie eingreifender und dauernder Umstimmung des Organismus den Kampf gegen die Infectionserreger bezw. deren Gifte, weniger mit den natürlichen, als mit den neu erworbenen Schutzkräften, den spezifischen Antikörpern, zu führen vermag.

Für eine Reihe verschiedener Infectionen hat die Immunitätsforschung der letzten Jahre wertvolle Aufschlüsse gebracht, wobei es sich sehr bald herausgestellen sollte, dass die Gesetze der Immunität keineswegs allgemeine Giltigkeit besitzen und etwa einem einzigen grossen Schema eingefügt werden können, vielmehr höchst wechselnder Natur und in jedem einzelnen Falle vorwiegend durch die besonderen biologischen und pathogenen Eigenschaften des Infectionserregers bedingt sind. Waren in dieser Hinsicht schon weitgehende Unterschiede zu Tage getreten bei solchen Mikroorganismen, welche entweder rein toxisch wirken, wie der Diphtherie- und Tetanusbacillus, oder aber toxisch-infectiöse Prozesse hervorrufen, wie Typhus-, Cholera-, Pyo-

cyaneusbakterien u. s. w., so durfte man gewiss noch wesentlich andere und kompliciertere Verhältnisse erwarten bei jenen, bezüglich ihrer Verbreitung im Tierkörper, von den genannten so fundamental verschiedenen Bakterienarten, wie es die Erreger der septicämischen Prozesse sind. Erst in jüngster Zeit hat man begonnen, dieser Gruppe von Mikroorganismen, vor allem ihrem bekanntesten und verbreitetsten Vertreter, dem Milzbrandbacillus, erneute Aufmerksamkeit zu widmen. Es schien mir daher nicht ohne Interesse auf diese Dinge näher einzugehen und speziell dem Problem der aktiven und passiven Milzbrandimmunität, mit Hülfe der bei dem Studium anderer Infectionen bewährten Methoden, sowie unter Berücksichtigung der dort gemachten Erfahrungen, weiter nachzuforschen.

II. Bisherige Versuche.

Die Möglichkeit, empfängliche Tiere gegen eine Infection mit virulenten Milzbrandkulturen zu immunisieren, ist seit langer Zeit bekannt. Nachdem zuerst Toussaint im Jahre 1880 über derartige Versuche der Académie de médecine in Paris berichtet hatte, ist diese Frage Gegenstand eifriger wissenschaftlicher Forschung geworden. Dabei zeigte es sich bald, dass die Erklärung, welche Toussaint seinen Beobachtungen gegeben hatte, den Kern der Sache nicht traf und auf der irrigen Voraussetzung beruhte, dass die von ihm durch kurz dauerndes Erhitzen oder Carbolzusatz aus Milzbrandblut gewonnenen Vaccins keine lebenden Milzbrandkeime mehr enthielten und deshalb für Versuchstiere unschädlich geworden seien. Erst Pasteur erkannte den Vorgang in seiner vollen, weittragenden Bedeutung. Er fand, dass das immunisierende Prinzip nicht in einer Abtödtung der Bakterien, vielmehr in dem Phänomen der Abschwächung, der künstlichen Herabsetzung ihrer Virulenz zu erblicken sei und empfahl gleichzeitig selbst, infolge der Unsicherheit des Toussaint'schen Verfahrens, eine neue Methode der Milzbrandschutzimpfung, welche durch dauernde Züchtung der Bakterien bei erhöhter Temperatur (42—43 °) das Milzbrandvirus abzuschwächen und in einen für die Ausführung der Schutzimpfung geeigneten Impfstoff umzuwandeln suchte. Im wesentlichen stützte sich Pasteur bei der Empfehlung seines Verfahrens auf scheinbar günstige Zahlen der Statistik, uachdem ihm eine Reihe von Vorversuchen den Beweis geliefert hatte, dass zweimalige Impfung mit zwei, in verschiedenem Grade abgeschwächten Kulturen (Vaccin I und II) ausreiche, um Schafen und Rindern gegen eine spätere Infection mit vollvirulentem Material sicheren Schutz zu verleihen.

Diese ziemlich allgemein gehaltenen Mitteilungen gewannen erst praktische Bedeutung durch die umfassenden Untersuchungen, welche

Koch, Gaffky und Löffler[1]) an einem reichen Tiermaterial der Lösung des Problems widmeten, um wissenschaftlich und experimentell begründete Gesetze und zuverlässige Angaben über die Ausführung und Brauchbarkeit des Verfahrens, sowie namentlich über die Grenzen seiner Wirksamkeit zu schaffen.

Wenn im Laufe der Jahre noch zahlreiche Versuche ausgeführt, zahlreiche Methoden empfohlen worden sind, so brachten dieselben keineswegs etwas prinzipiell neues. Stets handelte es sich um die von Pasteur entdeckte Art der Immunisierung vermittelst künstlich abgeschwächter Kulturen, wogegen die übrigen, sonst für Immunisierungszwecke in Betracht kommenden Methoden wenig erfolgreiches leisteten oder völlig versagten. Die Möglichkeit, auch abgetödtete Milzbrandkulturen bezw. sterilisiertes Milzbrandblut zu dem gedachten Zwecke zu verwenden, kann nach den theoretisch bemerkenswerten Untersuchungen Roux's und Chamberlands[2]) kaum bezweifelt werden, doch ist bei der Unsicherheit des Erfolges an eine praktische Verwertung des Verfahrens nicht zu denken. Das gleiche gilt von der immunisierenden Fähigkeit keimfreier Filtrate oder in besonderer Weise gewonnener oder präparierter „Milzbrandgifte.“ Auch die neueren Mitteilungen Marmier's[3]) dürften — die Zuverlässigkeit der Beobachtungen vorausgesetzt — diese Frage noch nicht in einwandfreier Weise entschieden haben. Was schliesslich die Verwendung kleinster Mengen lebender und vollvirulenter Kulturen anlangt, so existieren zwar in der Litteratur vereinzelte Angaben, wonach Tiere nach dem Überstehen einer derartigen Infektion sichere Immunität erlangt haben sollten, doch sind dies mehr zufällige Befunde, welche einer experimentellen Nachprüfung aus leicht ersichtlichen Gründen unüberwindliche Schwierigkeiten in den Weg legen müssen und zur Grundlage eines brauchbaren Verfahrens niemals geeignet erscheinen können.

Als gemeinsames Resultat aller bisherigen Bestrebungen darf die Thatsache angesehen werden, dass es gelingt, bei Vorbehandlung mit geeigneten Impfstoffen Schafe und Rinder, wie es scheint, auch Pferde mit Sicherheit gegen den Impfmilzbrand zu immunisieren. Dagegen ist die Frage, ob die nach Pasteur's Vorgang ausgeführten Schutzimpfungen nun auch gegen die auf dem Wege der Fütterung erfolgende Spontaninfektion Schutz zu verleihen vermögen, durch die im Grossen, nach Massenimpfung von Schaf- und Rinderherden gewonnenen statistischen Ergebnisse noch keineswegs in einwandfreier Weise entschieden worden. Bereits von Koch und seinen Mitarbeitern in verneinendem Sinne be-

1) Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt, II. 1884.
2) Annales de l'Inst. Pasteur, 1888.
3) Annales de l'Inst. Pasteur, 1895.

antwortet, hat dieses Thema in den Verhandlungen des VI. internationalen Kongresses für Hygiene und Demographie im Jahre 1887 in Wien eine grosse Rolle gespielt und zu lebhaftem Meinungsaustausch geführt, und findet auch in neueren Berichten sehr verschiedene Beurteilung.

Im Gegensatz zu den immerhin günstigen Erfolgen bei Rindern und Schafen verdient der auffallende Umstand hervorgehoben zu werden, dass die Verhältnisse sich ändern, sobald man zur Benutzung kleinerer Versuchstiere übergeht. Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse sind durch hohe Empfänglichkeit für Milzbrand ausgezeichnet, doch haben alle bisherigen Immunisierungsversuche zum mindesten zweifelhafte und unsichere Resultate ergeben. Die Möglichkeit, Kaninchen gegen vollvirulenten Milzbrand zu immunisieren, welche man anfänglich überhaupt bestritten hatte, scheint thatsächlich zu existieren, obwohl auch noch in letzter Zeit Zweifel an dieser zuerst durch Roux und Chamberland[1]) vertretenen und experimentell erhärteten Anschauung laut geworden sind. Mäuse und Meerschweinchen jedoch haben allen derartigen Versuchen beharrlich getrotzt, wenigstens giebt eine kritische Durchsicht der nicht ganz seltenen Berichte über positive Erfolge entschieden die Ueberzeugung, dass bisher eine mit Sicherheit zum Ziele führende Methode nicht gefunden ist und man wohl mit gewissen zufälligen oder in anderer Weise zu erklärenden Erscheinungen zu rechnen hat. So muss von vornherein ganz allgemein jene Art der Immunisierung ausgeschieden werden, welche nicht mit Hülfe abgeschwächter Milzbrandkulturen, sondern auf anderem Wege, sei es durch Behandlung mit antagonistischen Bakterienarten (Bac. pycyaneus, Pneumokokken, Streptokokken, Bac. Friedländer), sei es mit künstlich hergestellten Giftstoffen, Eiweisskörpern, eiweissähnlichen Substanzen, Organsäften u. s. w. eine erhöhte Widerstandsfähigkeit des Tierkörpers zu erreichen suchte, da derartige Erfolge, zumal dieselben keineswegs konstanter Natur zu sein pflegen, nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse, wie wir sahen, unter völlig anderem Gesichtspunkt zu betrachten und offenbar auf Wirkungen zurückzuführen sind, welche mit der echten Immunität nichts zu schaffen haben.

Was die Frage der passiven Immunität anbelangt, so hatte eine Reihe von Forschern über erfolgreiche Immunisierung mit dem Blute solcher Tierarten berichtet, welche sich von Natur gegenüber der Milzbrandinfection refractär zeigen. So wollten Ogata und Jasahura[2]) mit Frosch-, Hunde- und Rattenblut nicht nur bei Mäusen gegen den sog. „Mäusemilzbrand“ Schutz- und Heilerfolge erzielt, sondern auch Kaninchen und Meerschweinchen (!) gegen vollvirulente Kulturen sicher und dauernd immunisiert haben..

1) Annales de l'Inst. Pasteur, 1887.
2) cf. Centralbl. f. Bakt., IX, 1891.

Behring[1]) sah bei Mäusen den Milzbrand durch Rattenblut in günstigem Sinne beeinflusst, Versuche, welche durch ähnliche Beobachtungen Hankin's[2]) Bestätigung fanden.

Ob in der That diese Mitteilungen, soweit es sich dabei um die Infection mit vollvirulentem Material handelte, im Sinne echter Immunität zu deuten sind, dürfte gerade nach neueren Erfahrungen und Kenntnissen von der „allgemein gesteigerten [Resistenz“, sowie im Hinblick auf gewisse Widersprüche in den Angaben der einzelnen Autoren zu ernsterem Zweifel berechtigen. Schon Behring hatte ausdrücklich betont, dass die Resultate keineswegs zuverlässige seien, Hankin das Serum um so wirksamer gefunden, je näher es dem Orte der Milzbrandimpfung injiziert wurde, bis Metschnikoff[3]) und Roux diese Angaben dahin modifizierten und aufklärten, dass überhaupt keine Immunität, vielmehr eine direkte Schädigung der Milzbrandbacillen durch das Rattenserum bewirkt werde. Dazu kommt, dass von vielen Seiten (Petruschky[4]), Lubarsch[5]), Pane[6]), Bergonzini[7]), Serafini und Erriquez[8]), Petermann[9]) und A.) mit dem Blute der erwähnten Tierarten, wie Hunde, Frösche, Ratten nicht einmal die Thatsächlichkeit der Ogata'schen Angaben bestätigt, ja z. Th. eine scheinbar ungünstige Einwirkung auf den Verlauf der Milzbrandinfection konstatiert werden konnte.

Jedenfalls ist aus diesen kurzen Andeutungen, bei unbefangener Beurteilung, schon das eine zu entnehmen, dass eine Immunisierung mit Hülfe des Blutes immuner oder wenig empfänglicher Tierarten auch bei dem Milzbrand bisher nicht in einwandfreier Weise geglückt ist, eine Thatsache, welche, wie erwähnt, mit den bei anderen Infectionen gemachten Erfahrungen durchaus in Einklang steht.

Das Blut künstlich immunisierter Tiere zur Verleihung der Immunität zu benutzen, das Verfahren der „passiven“ Immunisierung, welches sich sonst als möglich erwiesen und so glücklich bewährt hat, ist für den Milzbrand bis in die letzte Zeit nur in ganz vereinzelten Fällen versucht worden. Neben beiläufigen Beobachtungen, wie sie sich in der Litteratur zerstreut finden (vgl. z. B. Behring[10]), Pane[11]) u. A.) wären hier die Untersuchungen Gabritschewski's[12])

1) Zeitschr. f. Hyg., IX.
2) Centralbl. f. Bakt. IX. u. X.
3) Annales de l'Inst. Pasteur, 1891.
4) cfr. Baumgarten, Jahresber., VII., S. 498.
5) cfr. Baumgarten, Jahresber. VIII.. 1892.
6) Riv. clin. e terapeut., 1891.
7) Rassegna di scienze mediche, 1891.
8) Riforma medica, 1891.
9) Annales de l'Inst. Pasteur 1891.
10) Deutsche Med. Wochenschr. 1891, S. 655.
11) a. a. O.
12) Centralblatt f. Bakt., X., 1891.

zu erwähnen, der zwar nicht mit dem Blute, wohl aber mit dem Muskel- und Organsaft immunisierter Thiere (Kaninchen) Immunisierungsversuche anstellte und bei Meerschweinchen und Mäusen absolut negative Resultate zu verzeichnen hatte.

Auch die von Metschnikoff[1]) stammende Angabe, dass Milzbrandbazillen bei Kultivierung in dem Blutserum künstlich immunisierter Tiere eine Abschwächung ihrer Virulenz erfahren sollten, ist nach neueren, sogleich zu erwähnenden Versuchen Sclavo's wohl unter einem anderen Gesichtspunkt zu betrachten und gleichfalls an dieser Stelle zu berücksichtigen. Die geringe Wirksamkeit derartiger Serumkulturen beruht nicht, wie durch S. erwiesen werden konnte, auf der verminderten Pathogenität der Milzbrandbakterien, vielmehr auf gewissen immunisierenden Eigenschaften des gleichzeitig injizierten Serums. Also hier würde es sich im Gegensatz zu den Resultaten Gabrietschewski's um ein positives Ergebnis handeln.

Neuerdings hat Marchoux[2]), und etwa gleichzeitig Sclavo[3]), die Frage in eingehender Weise behandelt.

Marchoux berichtete über erfolgreiche Schutzimpfung mit einem Milzbrandserum, das er von hochimmunisierten Schafen und Kaninchen erhalten hatte.

Es gelang ihm, in günstigen Fällen, bei vorhergehender Injection durch 1—2 ccm Kaninchen gegen virulenten Milzbrand zu schützen, ja selbst bei gleichzeitiger oder nachfolgender Serumbehandlung die Tiere mit Sicherheit zu retten. Die schützende und heilende Wirkung des Hammelserums war eine sehr ausgesprochene, geringer diejenige des Kaninchenserums, obwohl auch hiermit unzweifelhaft günstige und sichere Erfolge erzielt werden konnten.

Zur Erklärung glaubt Marchoux, auf Grund seiner Untersuchungen, in erster Linie phagocytäre Prozesse heranziehen zu sollen.

Ganz ähnlich sind die Resultate, welche Sclavo mit dem Milzbrandserum erhalten hat.

Nachdem er bereits auf dem 10. italienischen Congresse für innere Medizin in Rom eine kurze Mitteilung bekannt geben konnte, in welcher er über die Wirksamkeit des Serums von 2 hochimmunisierten Hammeln berichtete und versicherte, dass schon 1 ccm ausreichend sei, um Kaninchen mit Erfolg zu schützen, folgte im Laufe des letzten Jahres eine zweite ausführlichere Veröffentlichung. Dieselbe bestätigte die früher gewonnenen Erfahrungen nach jeder Richtung hin und erweiterte dieselben insofern, als sich von

1) Annales de l'Inst. Pasteur, 1887.

2) Annales de l'Inst. Pasteur, 1895.

3) Centralbl. f. Bakt. XVIII, 1895 und Riv. d'Igiene e Sanità pubblica, 1896. No. 18. und 19.

allen geprüften Tierarten besonders der Esel zur Erzeugung der Milzbrandantikörper eignen sollte. Mit Hülfe eines derartigen hochwirksamen Eselserums, welches über präventive und therapeutische Fähigkeiten verfügte, ist Sclavo unter gewissen Bedingungen, auch die Immunisierung von Meerschweinchen geglückt, ein Erfolg, der allen bisherigen Bemühungen versagt geblieben war. Auch Marchoux hatte in dieser Hinsicht, ebenso wie früher Sclavo selbst, mit andersartigem Milzbrandserum nur wenig befriedigende Resultate zu verzeichnen gehabt.

III. Eigene Versuche.

A. Virulenz und Dosierung.

Um über Fragen der aktiven und passiven Immunität in zuverlässiger Weise Aufschluss zu erhalten, ist es erforderlich, drei Faktoren zu berücksichtigen, welche erfahrungsgemäss für den Ausfall der Versuche von grösster Bedeutung sind, nämlich die Virulenz der Kulturen, die Dosierung der letzteren und die Wahl der Versuchstiere. Um zunächst den letzten Punkt zu erledigen, so erstreckten sich meine eigenen Versuche auf Kaninchen im Durchschnittsgewicht von 800—1500 g, Meerschweinchen im Gewicht von 250—350 g und weisse Mäuse, sowie später, hauptsächlich in Rücksicht auf die Gewinnung möglichst reicher Serummengen, auch auf Schafe. Was die benutzte Milzbrandkultur anbelangt, so hatte ich dieselbe durch Verimpfung von Milzbrandsporen-Seidenfäden erhalten, welche seit längerer Zeit in der Sammlung unseres Instituts aufbewahrt wurden. Die Virulenz derselben war derartig, dass, wenn eine kleine Menge frischer Agarkultur mit Hülfe der Platinöse einem Meerschweinchen in eine Tasche der Bauchhaut gebracht wurde, das Tier im Verlaufe von 36—48 St. zu Grunde ging. Indessen konnte ich bald die Beobachtung machen, dass gerade für die Entwicklung der Milzbrandinfection die Art der Impfung überaus bedeutungsvoll ist und bei Vernachlässigung gewisser Kautelen zu scheinbar regellosen und wechselnden Resultaten führen kann. Es sind diese Beobachtungen keineswegs neu und in ihrer Tragweite schon durch Behring erkannt und gewürdigt, dennoch aber, wie ich glaube, vielfach nicht in der nötigen Weise berücksichtigt worden. So ist in erster Linie die Flüssigkeitsmenge, welche bei der Injektion der Bacillen als Vehikel dient, von nicht unerheblichem Einfluss, der Verlauf der Infektion ferner ein weit rapiderer, wenn eine Bouillonkultur oder Bouillonaufschwemmung injiziert wird, als bei der oben erwähnten Art der Impfung mittelst Platinöse, auch ergeben sich schliesslich je nach dem Sporenreichtum der Kultur unverkennbare zeitliche Differenzen in dem Tode der Tiere. Während die mir zur Verfügung

stehende Kultur bei geeigneter Dosierung und Applikation, wie wir sogleich sehen werden, Tiere (Kaninchen) mit Sicherheit in 24 Stunden tötete, wirkte eine selbst weit grössere Bakterienmenge unter Umständen erst in der doppelten Zeit, sobald ich z. B. das dem Bakterienrasen einer Agarkultur entnommene Material ohne Bouillonzusatz unter die Haut brachte und dazu eine 3—4 tägige, sehr sporenreiche Kultur benutzte. Ja, in dem letzteren Falle blieben die Tiere gelegentlich 2—3 Tage am Leben, ein Resultat, welches eine Abnahme der Virulenz vorzutäuschen schien, aber alsbald dadurch aufgeklärt werden konnte, dass bei Innehaltung des gewöhnlichen, sogleich zu besprechenden Infektionsmodus die nämliche Milzbrandkultur ihre alte Pathogenität ungeschwächt zu erkennen gab. Ich bin daher ganz allgemein so vorgegangen, dass ich eine bestimmte Menge des Kulturrasens junger, 14—18 stündiger Agarkulturen in steriler Bouillon aufschwemmte und nach geeigneter Verdünnung zur Injektion benutzte. Dabei sind einige Vorsichtsmassregeln unerlässlich. Zur Dosierung, d. h. zur Abmessung der Bakterienmenge, bediente ich mich einer Platinöse, welche bei vollständiger Füllung etwa 3 mg der Kulturmasse fasste. Die letztere wurde sodann auf der Innenfläche eines sterilen Reagensglases sehr sorgfältig verrieben, ganz allmählich, unter tropfenweisem Zusatz, mit steriler Bouillon vermischt und diese Aufschwemmung dann schliesslich genau auf das Quantum von 10 ccm gebracht. Man erhält bei einiger Übung und Sorgfalt stets Aufschwemmungen von annähernd gleicher Konzentration, welche man nunmehr nach Belieben weiter verdünnen kann. Dennoch empfiehlt es sich unbedingt, für vergleichende Untersuchungen die Flüssigkeit nochmals durch ein sterilisiertes Papierfilter zu schicken, da es sich sonst nicht vermeiden lässt, dass feinste Flöckchen und Körnchen zusammengeballter Milzbrandfäden in der Bouillon suspendiert bleiben. So beziehen sich auch die in den folgenden Protokollen aufgeführten Mengen stets auf derartige filtrierte Aufschwemmungen, sofern nicht ausdrücklich etwas anderes darüber bemerkt ist. Bei der Herstellung der Verdünnungen wurde regelmässig so verfahren, dass Kaninchen und Meerschweinchen die für sie bestimmte Bakterienmenge in 1 ccm, Mäuse in 0,5 ccm Bouillon erhielten.

Die Virulenzbestimmung einer Milzbrandkultur ist von den meisten Forschern in der Weise ausgeführt worden, dass sie geringe Mengen, wenige Tropfen oder auch nur einen Tropfen, einer Bouillonkultur injizierten. Da jedoch auch diese kleinen Kulturmengen noch eine enorme Anzahl, viele Hunderttausende, von Bazillen zu enthalten pflegen, so schien es mir zweckmässig, kleinere Dosen zu verwenden, um vielleicht durch fortschreitende Verdünnung quantitative Differenzen aufzudecken und schliesslich eine Grenze der Wirksamkeit zu ermitteln. Auf eine ursprünglich beabsichtigte Trennung

der Versuche in solche mit sporenfreiem und sporenhaltigem Material konnte ich um so eher verzichten, als sich bei sorgfältiger Beobachtung der eben angedeuteten Vorschriften irgendwie erhebliche Differenzen nicht mehr einstellten. Die Agaraufschwemmungen enthielten, trotzdem nur junge Kulturen zur Anwendung gelangten, neben Milzbrandbazillen bereits regelmässig eine gewisse Menge teils freier, teils eingeschlossener Sporen, eine Erscheinung, welche ich übrigens auch bei gleichaltrigen Bouillonkulturen feststellen konnte. Letztere glaubte ich jedoch vermeiden zu sollen, um möglichst mit den Bakterien allein, unter Ausschaltung ihrer löslichen Stoffwechselprodukte, zu arbeiten.

Die mit Hülfe dieses Dosierungsverfahrens ermittelte Virulenz meiner Milzbrandkultur ergiebt sich aus Tabelle I. In derselben sind die Ergebnisse mehrerer Versuchsreihen zusammengestellt, welche ich ausserdem durch zahlreiche andere Experimente in klarster Weise bestätigt gefunden habe. Die Tabelle ist in mehrfacher Hinsicht von Interesse. Einmal lehrt dieselbe, dass es unzweifelhaft gelingt, die Wirkung des vollvirulenten Milzbrandes ganz systematisch abzustufen, je nach der Menge der verimpften Bakterien. Aber um dies ausdrücklich zu betonen, nur von einer gewissen Grenze abwärts lassen sich diese Unterschiede zur Wahrnehmung bringen und verschwinden, sobald man, bei sonst gleichen Bedingungen, zu höheren Dosen greift. So habe ich — es sind diese Beobachtungen nicht besonders verzeichnet — Kaninchen selbst mit 1 ganzen Öse nicht schneller als in 24—28 Stunden, Meerschweinchsn und Mäuse mit sehr erheblichen Mengen nicht schneller als in der für $^1/_{100}$ Öse angegebenen Zeit zu töten vermocht. Umgekehrt machte sich indessen eine Verzögerung des Todes geltend, sobald die Bakterienmenge unter eine bestimmte Grenzzahl sank. So starb Kaninchen No. 10 nach der Infektion mit $^1/_{20\,000\,000}$ Öse erst nach 13—14 Tagen, eine Maus (No. 10) nach 5—6 Tagen, Meerschweinchen No. 9, welches $^1/_{5\,000\,000}$ Öse erhalten hatte, nach 58—66 Stunden. Die angegebenen Zahlen besitzen begreiflicher Weise keine absolute Giltigkeit, obwohl ich nicht unerwähnt lassen möchte, dass man meistens geradezu überraschende Uebereinstimmung der Resultate findet und in einer Versuchsreihe mit abgestuften Dosen nach dem Tode des ersten Tieres den Tod der übrigen fast auf die Stunde vorherzusagen im Stande ist. Bemerkenswert und bezeichnend für die volle Virulenz einer Milzbrandkultur erscheint vor allen Dingen die Thatsache, dass auch bei Impfung mit geringsten Spuren der Tod unbedingt sicher erfolgt. Wenigstens gilt dies für die von mir geprüften Tierarten, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse, von denen aus einer überaus grossen Zahl kein einziges Tier eine derartige Infektion zu überstehen vermochte.

Weiterhin erbringen die mitgeteilten Infektionsversuche aber noch den Beweis, dass sich ein Unterschied in der Empfänglichkeit der drei Tierarten, wie er gewöhnlich angenommen wird, in keiner Weise feststellen liess. Zwar scheint der Verlauf der Milzbrandinfektion bei Meerschweinchen im allgemeinen ein rascherer zu sein, so dass diese Tiere der kleinsten überhaupt noch wirksamen Dosis in längstens 66 Stunden, wenigstens nach meinen Untersuchungen, erliegen, doch bedeutet dies gegenüber Kaninchen und Mäusen, welche der gleich starken Infektion erst nach 4, 6 und mehr Tagen zum Opfer fallen, keineswegs eine höhere Empfänglichkeit. Es ist mir trotz oft wiederholter Versuche nicht gelungen, die Milzbrandaufschwemmungen in einer solchen Weise zu verdünnen, dass sie etwa noch für Mäuse oder Meerschweinchen, nicht aber für Kaninchen deletär gewesen wären. Stets erstreckte sich die Wirkung gleichmässig auf alle drei Tierarten, wenn dies auch nicht in dem Rahmen jeder einzelnen Versuchsreihe mit Deutlichkeit zum Ausdruck gelangen konnte. Sobald die gewählte Milzbranddosis die Grenze der absoluten Wirksamkeit erreicht hatte d. h. denjenigen Grad von Verdünnung darstellte, welcher überhaupt noch Milzbrandbacillen in vereinzelten Exemplaren, vielleicht nur einen einzigen Keim, enthielt, kam es gelegentlich vor, dass eines der Tiere am Leben blieb, aber nicht etwa in Folge seiner geringeren Empfänglichkeit, sondern, wie der Vergleich mit anderen Versuchsreihen lehrte, offenbar deshalb, weil es in der injizierten Flüssigkeit keine lebenden Infektionserreger mehr erhalten hatte. So habe ich unter Berücksichtigung der besprochenen Kautelen 1/20,000,000 Öse als tötliche Grenzdosis feststellen können, während bei noch weitergehender Verdünnung, z. B. auf 1/100,000,000 Öse, die Impfung ganz allgemein resultatlos verlief. Wenn daher in dem auf Tab. I. angeführten Falle von den unter No. 10 verzeichneten, mit 1/20,000,000 Öse behandelten Tieren nur das Meerschweinchen die Infektion überstand, während Kaninchen und Maus nach einiger Zeit an typischem Milzbrand zu Grunde geringen, in anderen Fällen aber, bei Wiederholung des gleichen Versuches, umgekehrt das Meerschweinchen starb und eine der beiden übrigen Tierarten am Leben blieb, so spricht dieses Ergebnis wohl ohne weiteres gegen die Annahme einer, durch die Art der Versuchstiere bedingten, ungleichen Empfänglichkeit und muss vielmehr auf gewisse Zufälligkeiten der angedeuteten Natur zurückgeführt werden, wie man sie bei der Verwendung so verschwindend geringer Backterienmengen wohl ohne weiteres wird annehmen dürfen. Dass in der That die Menge von 1/20,000,000 Öse als tötliche Minimaldosis bezeichnet werden konnte, war in Bestätigung des Tierexperimentes auch auf kulturellem Wege zu erweisen. Von vornherein erschien es nicht ausgeschlossen, dass der Tierkörper als das feinere Reagens vielleicht im Stande sei, das

Vorhandensein von Milzbrandkeimen noch zu offenbaren, wo das künstliche Nährsubstrat, die Agarplatte. bereits versagte, doch haben meine auf Entscheidung dieser Frage gerichteten Versuche nicht zu Gunsten einer derartigen Auffassung entschieden. Plattenverfahren und Tierversuch lieferten übereinstimmende und gleichwertige Ergebnisse. Nur wenn auf der Platte noch Milzbrandkolonien zur Entwickelung gelangten, erlagen die Tiere mit Sicherheit der Impfung, während bei Verdünnungen, welche sich durch die Kultur als steril erwiesen, auch der Tierversuch negativ ausfiel. Bei mehrfacher Wiederholung habe ich durchaus eindeutige Resultate erhalten und feststellen können, dass eine Öse meiner filtrierten Aufschwemmungen durchschnittlich 20—50 Millionen entwicklungsfähiger Keime enthielt. Es würde in dieser Thatsache die Ein-Keim-Theorie der echten Infektion für den Milzbrandbacillus erneute Bestätigung erfahren.

Wenn ich entgegen der im allgemeinen herrschenden Ansicht, dass die Empfänglichkeit der Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse für Milzbrand sich in der angegebenen Reihenfolge steigere, für die von mir benutzte Milzbrandkultur zu Resultaten gelangte, welche diesen Unterschied nicht hervortreten liessen und den Verlauf der Infektion lediglich mit der verimpften Keimzahl erklärten, so konnte ich mich vielleicht durch Zufall in dem Besitze einer für Kaninchen ganz besonders virulenten Kultur befunden haben. Gerade in der jüngsten Zeit hat das Studium anderer Infektionen zu der Erkenntnis geführt, dass es nicht angängig ist, ganz allgemein von der Virulenz einer Bakterienart zu sprechen, dass vielmehr die pathogene Wirksamkeit sich in der Regel als eine spezifische, für jede Tierart verschiedene charakterisiert. So wissen wir durch die Untersuchungen Petruschky's [1]), dass es Streptokokkenstämme giebt, welche z. B. ursprünglich für Kaninchen wenig wirksam, schliesslich durch vielfache Tierpassagen zu höchster Virulenz für diese Tierart herangezüchtet werden können, ohne dabei anderen Tieren oder gar dem Menschen besonders gefährlich zu werden; ähnliche Virulenzverhältnisse sind bezüglich der Hühnercholerabakterien beobachtet worden (Voges [2]) und schliesslich sei daran erinnert, dass die aus schwer oder gar tötlich verlaufenden menschlichen Krankheitsfällen frisch isolierten pathogenen Mikroorganismen sehr häufig im Tierversuch keineswegs denjenigen gefährlichen Charakter verraten, wie man nach ihrer Herkunft erwarten sollte. Streptokokken und Staphylokokken aus bösartigen Eiterungen, Diphtheriebacillen, Typhus-, Cholerabakterien u. s. w. zeigen an Tieren durchaus schwankende, sehr häufig auffallend geringe „Virulenz". So wäre es möglich, dass auch für den Milzbrandbacillus auf künstlichem Wege

1) Zeitschr. f. Hyg., XXIII.

2) Zeitschr. f. Hyg., XXIII.

eine Virulenzsteigerung nach ganz bestimmter Richtung hin erzielt werden könnte und die von mir benutzte Milzbrandkultur, welche längere Zeit zu Infektionsversuchen an Kaninchen gedient hatte, allmählich auch für diese Tierart eine ungewöhnlich hohe Pathogenität erlangt hatte. Ich wollte nicht unterlassen, diesen Gesichtspunkt hervorzuheben, welcher es vielleicht verständlich macht, weshalb virulente oder wenigstens nicht absichtlich in ihrer Virulenz geschädigte Milzbrandkulturen bei Kaninchen häufig die Entfaltung ihrer vollen und sicheren Wirkung vermissen lassen.

Als charakteristische Eigenschaften eines vollvirulenten Milzbrandes möchte ich hiernach bezeichnen: die Sicherheit der Wirkung, die Möglichkeit, mit Hilfe der Dosierung diese Wirkung in ihrem zeitlichen Verlaufe zu beeinflussen, und schliesslich die gleiche Wirksamkeit für Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse. Diese Verhältnisse ändern sich, wie wir sehen werden, mit einem Schlage, sobald durch schädigende Einflüsse die Virulenz der Kultur nur im Geringsten herabgesetzt wird.

Bei der Sektion der mit virulentem Milzbrand subkutan geimpften Tiere bietet sich bekanntlich in der Regel ein Bild, welches sehr auffällige Veränderungen zu erkennen giebt und vor allem durch gallertiges Ödem an der Injektionsstelle, Milzschwellung und blutige Durchtränkung der Bauchorgane charakterisiert ist. Die Bacillen finden sich bei der mikroskopischen Untersuchung namentlich in der Milz in zahlloser Menge und von bekanntem Aussehen. Dieses Verhalten, welches in den folgenden Tabellen von mir stets als „typischer Befund“ bezeichnet ist, kann durch die verschiedensten Umstände in entscheidender Weise beeinflusst werden. So habe ich Abweichungen von dem gewöhnlichen Verhalten sehr oft beobachtet, sobald die Krankheit der Tiere, bei Infektion mit kleinsten Dosen, sich über eine Reihe von Tagen hinzog. Als konstantestes Symptom bleibt allerdings auch hier die Milzvergrösserung bestehen, dagegen pflegen die lokalen Veränderungen in derartigen Fällen unter Umständen sehr geringfügiger Natur zu sein. Namentlich aber zeigen die Milzbrandbacillen höchst auffällige morphologische Eigentümlichkeiten, wie sie für den abgeschwächten Milzbrand als charakteristisch beschrieben worden sind. Abgesehen von der gelegentlich recht geringen Zahl von Keimen findet man nicht die bekannten Stäbchen einzeln, höchstens in kurzen Verbänden von 2 oder 3 Gliedern angeordnet, vielmehr zu langen Fäden vereinigt, welche sich mitunter durch ein ganzes Gesichtsfeld und noch weiter hinziehen und vielfach schlingenartig aufgeknäult erscheinen. Das Protoplasma verrät auch in frischen, unmittelbar nach der Sektion hergestellten Praeparaten eine eigentümlich körnige Beschaffenheit, zeigt an Sporen erinnernde Va-

kuolen, und nimmt den Farbstoff nicht mit der gewöhnlichen Intensität und Gleichmässigkeit auf. Viele dieser Milzbrandbacillen sind deutlich verdickt, gequollen und lassen bei der Behandlung mit den wässrigen Anilin-Farbstofflösungen ohne Schwierigkeit, ohne Anwendung besondererVorsichtsmassregeln, eine „Kapsel“erkennen,welche sich dadurch charakterisiert, dass zwischen dem gefärbten Bakterienleibe und einer äusseren, gleichfalls deutlich gefärbten Begrenzungslinie eine ziemlich breite ungefärbte Zone warzunehmen ist. Neben dieser, von dem typischen Aussehen der Milzbrandbacillen abweichenden Form ist mir gelegentlich in der Milz der Tiere noch eine andere Art von kugeligen Elementen begegnet, welche an die bei verschiedenen Bakterien unter gewissen Bedingungen beobachteten eigentümlichen Umwandlungsformen, die sog. Bakteriengranula, in hohem Masse erinnerten und an späterer Stelle noch ausführlichere Besprechung finden sollen.

Alle diese Erscheinungen traten, wie erwähnt, keineswes mit Regelmässigkeit auf, sondern wurden nur bei Injektion äusserst kleiner Mengen, etwa von 1 100,000 Öse abwärts, gelegentlich beobachtet, und zwar unter Umständen, welche kaum einen Zweifel darüber liessen, dass es sich hier um gewisse unberechenbare individuelle Verschiedenheiten der Versuchstiere, nicht um konstante, gesetzmässige Veränderungen handelte. Am häufigsten boten Mäuse, sehr selten Meerschweinchen jene Bilder, und bei unbehandelten Kaninchen habe ich nur in einem einzigen Falle das Phänomen der Faden- und Kügelchenbildung mit Sicherheit beobachten können.

B. Eigenschaften der benutzten Milzbrandvaccins.

Für den Versuch aktiver Immunisierung war es zunächst erforderlich, in den Besitz geeigneter Vaccins zu gelangen. Da die beiden Pasteur'schen Impfstoffe (Vaccin I und II.) für kleinere Versuchstiere eine recht erhebliche Virulenz besitzen, nach allen bisherigen Erfahrungen eine Aussicht auf Erfolg aber nnr möglich erschien, wenn in besonders vorsichtiger und allmäliger Steigerung von einem schwächsten Virus zu immer virulenteren Kulturen vorgegangen wurde, suchte ich durch geeignete Abstufung des Virulenzgrades aus meiner hochvirulenten Kultur eine grössere Anzahl verschieden wirksamer Milzbrandstämme zu erzeugen. Ich habe mich dabei an die Methode Pasteur's gehalten und unter Berücksichtigung der von Koch, Löffler und Gaffky[1]) gegebenen Anweisungen, in der That durch Züchtung bei einer Temperatur von 42,3 - 42,5° abgeschwächte Milzbrandkulturen verschiedener Virulenz gewonnen. Anfangs mit Bouillonkulturen und zwar, auf Pasteur's Empfehlung, mit Hühner-

1) a. a. O.

bouillon, sowie mit Pferdebouillon arbeitend, ging ich bald zur Benutzung des gewöhnlichen Agars über, da ich hiermit ebenso rasche und gute Resultate erzielen konnte. Die Agarkulturen wurden etwa von 5 zu 5 Tagen übergeimpft und auf ihre Virulenz geprüft. Auf diese Weise stellte ich schliesslich 3 Milzbrandstämme her, welche von deutlich unterschiedener Virulenz waren und mir für meinen Zweck brauchbar erschienen. Die eine Kultur, im folgenden stets als „Milzbrand I" bezeichnet, war nach 10 Wochen langer Züchtung bei 42,5° erhalten worden, die übrigen (Milzbrand II und III) nach 20 bezw. 11 Tagen. Ich verweise zunächst auf eine Tabelle (Tab. II), welche über die Virulenzbestimmung dieser 3 Kulturen, sowie über die der beiden Pasteur'schen Vaccins Aufschluss giebt. Die letzteren hatte ich aus dem Laboratorium Pasteur in Stuttgart bezogen.

Es würde sich hiernach die Virulenz der Kulturen etwa dahin charakterisieren lassen:

Milzbrand I ist selbst in grössten Dosen für Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse absolut unschädlich, Milzbrand II nur noch für Kaninchen, dagegen schon für Meerschweinchen unter Umständen pathogen, für Mäuse sicher tötlich, so dass dieser Virulenzgrad demjenigen des sog. „Mäusemilzbrandes" ungefähr gleichkäme, vielleicht um ein geringes überlegen wäre. Milzbrand III tötet mit Sicherheit Meerschweinchen und Mäuse, aber nicht Kaninchen und unterscheidet sich von dem 1. Vaccin Pasteur's nur dadurch, dass Meerschweinchen in der Regel erst nach längerer Zeit der Infektion erliegen. Pasteur's II. Vaccin wirkt bei Meerschweinchen und Mäusen sicher, unsicher bei Kaninchen, jedenfalls erzeugen auch schon kleinste Dosen bei letzterer Tierart ausgesprochene Krankheitserscheinungen. Da die Virulenz der beiden Pasteur'schen Vaccins, wie bereits von Koch[1]) hervorgehoben und auch aus sonstigen Mitteilungen hervorgeht, keine gleichmässige zu sein scheint, so dürfen die Angaben über die Wirksamkeit derselben lediglich für die beiden von mir geprüften Kulturen Anspruch auf Giltigkeit erheben.

Eine Abnahme oder Steigerung des einmal erlangten Virulenzgrades habe ich bei meinen Milzbrandkulturen, in Übereinstimmung mit anderweitigen Beobachtungen, im Laufe der Untersuchungen nicht bemerken können.

Neben der veränderten Empfänglichkeit der verschiedenen Tierarten, wie sie bei der Infektion mit abgeschwächtem Milzbrand deutlich zu Tage tritt, ist namentlich die Verzögerung und Unsicherheit der Wirkung bezeichnend. Für gewöhnlich starben Tiere an abgeschächtem Milzbrand erst später, aber selbst wenn

---

1) a. a. O.

diese Verzögerung nicht sehr ausgesprochen erschien, machte sich, wie aus den in Tabelle II mitgeteilten Versuchen hervorgeht, eine mehr oder minder ausgeprägte Unabhängigkeit von der Dosierung geltend. So ist z. B. nach der Impfung mit Milzbrand II diejenige Maus, welche die höchste Dosis erhalten hatte, am spätesten gestorben, ein Meerschweinchen nach einer ganzen Öse (unfiltriert) am Leben geblieben, während ein anderes durch $^{1}/_{100}$ Öse getötet wurde; Milzbrand III wies ähnliche Verhältnisse auf, Pasteur's Vaccin II gab nur noch bei Kaninchen die von der injizierten Dosis unabhängige Wirkung deutlich zu erkennen, während bei Mäusen und Meerschweinchen die Regelmässigkeit der Erscheinungen sich derjenigen des virulenten Milzbrandes näherte, mit einem Worte: das individuelle Moment, ein Faktor, der für den virulenten Milzbrand nicht in Betracht kommt oder völlig vernachlässigt werden kann, tritt hier in den Vordergrund, individuelle Verschiedenheiten der Versuchstiere, nicht die Menge der verimpften Bakterien erklären die schwankenden Resultate.

Der Sektionsbefund entsprach durchaus demjenigen von Tieren, welche vollvirulentem Milzbrand erlegen waren, und liess in der Regel auch mikroskopisch identische Verhältnisse erkennen. Die in der Milz zahlreich vorhandenen Stäbchen waren als gut erhaltene und färbbare Elemente charakterisiert und wiesen nur in einzelnen, keineswegs sehr häufigen Fällen jene morphologischen Eigentümlichkeiten auf, wie sie für den virulenten Milzbrand, nach Injektion kleinster Dosen, von mir beobachtet und beschrieben wurden.

Was die kulturellen Eigenschaften der einzelnen Milzbrandvaccins anlangt, so möchte ich zunächst meine eigenen Kulturen von den beiden Pasteur'schen scheiden. Wie die virulente Stammkultur, welche zur Erzeugung der übrigen Arten gedient hatte, in jeder Hinsicht dem für den Milzbrandbazillus als typisch geltenden Verhalten entsprach, war bei Milzbrand II und III nach der morphologischen oder kulturellen Seite auf den gewöhnlichen Substraten kaum eine auffallende Abweichung zu konstatieren. Doch machte sich bei Milzbrand II bereits eine geringe Abschwächung der Wachstumsenergie bemerkbar, die namentlich in Gelatinestichkulturen durch verzögertes Wachstum und langsamer von statten gehende Verflüssigung des Nährbodens zum Ausdruck gelangte. Sehr ausgesprochen waren diese ungewöhnlichen Eigenschaften bei Milzbrand I, der vollkommen unwirksamen Varietät, wie ich in Übereinstimmung mit der bereits von Flügge[1]) auf Grund der Untersuchungen Smirnow's[2]) geäusserten Anschauung, wonach

1) Zeitschr. f. Hyg., IV.
2) Zeitschr. f. Hyg., IV.

ein Verlust der Virulenz auch die übrigen Eigenschaften eines Mikroorganismus nicht unbeeinflusst lassen könne, festzustellen vermochte. Es kam sowohl auf der Gelatineplatte wie in Stichkulturen erst nach 3—4 Tagen zur sichtbaren Vermehrung der ausgesäten Keime und zu einer Zeit, wo die gleichzeitig angelegten und unter den gleichen Bedingungen gehaltenen Kulturen des virulenten Milzbrandes den Nährboden bereits in ausgiebigem Masse verflüssigt hatten, konnte man z. B. in Stichkulturen erst an der Oberfläche beginnende Verflüssigung beobachten. Dann aber zeichnete sich dieser, seiner Virulenz beraubte Milzbrand durch sehr hohe Empfindlichkeit aus, indem er in den Kulturen nach relativ kurzer Zeit abzusterben pflegte (nach 2—3 Wochen) und infolgedessen eine häufige Überimpfung auf neues Nährmaterial erforderlich machte. Es hängt dies offenbar mit einer Eigenschaft zusammen, auf welche sogleich näher eingegangen werden soll. Im Übrigen war es unmöglich, durch das mikroskopische Aussehen der Bakterien, die Form der Kolonieen, das Wachstum in Bouillon u. s. w., diese Kulturen von dem virulenten Milzbrand zu unterscheiden.

Ganz anders verhielten sich die Pasteur'schen Vaccins. Dieselben zeigten zwar unter einander, soweit dies mit Hülfe der gebräuchlichen Untersuchungs- und Züchtungsmethoden festzustellen war, vollkommene Übereinstimmung, waren jedoch durch eine Reihe besonderer Eigentümlichkeiten von den oben erwähnten Kulturen nicht unwesentlich unterschieden. Neben einer gewissen Kleinheit der Elemente fiel namentlich sehr geringe Neigung zur Fadenbildung auf, eine Eigenschaft, welche in Bouillonkulturen sehr bald auch makroskopisch zur Wahrnehmung gelangte. Nicht wie bei den übrigen Milzbrandkulturen durch das bekannte Auftreten von federartigen Flocken und Fäden, welche die sonst klare Flüssigkeit durchziehen, vielmehr durch eine fast gleichmässige Trübung des Nährbodens waren die Bouillonkulturen der beiden Vaccins ausgezeichnet. Das Wachstum bei Zimmertemperatur war etwas verlangsamt und auf der Gelatineplatte sowie in der Stichkultur keineswegs typisch. Die Kolonieen fielen bei mikroskopischer Betrachtung als ziemlich massige Gebilde auf, welche auch in den Randpartieen ein kompakteres Aussehen zeigten und statt der charakteristischen Auffaserung in vielverschlungene Ausläufer nur feinste stachelartige Fortsätze erkennen liessen. In der Gelatinestichkultur erfolgte die Entwickelung streng im Verlaufe des Impfstiches, während von der seitlichen, das bekannte Bild des „umgekehrten Tannenbaumes" ergebenden Ausbreitung auch nicht andeutungsweise die Rede war.

Die peptonisierende Fähigkeit der Pasteur'schen Kulturen war gleichfalls herabgesetzt und blieb noch um ein beträchtliches hinter der des Milzbrandes I zurück. Erst nach 5—6 Tagen machte sich

auf Platten- und Stichkulturen das erste Zeichen beginnender Verflüssigung bemerkbar.

Der Versuch, mit Hülfe von Lakmusbouillon nach dem Vorgang von Behring[1]) die einzelnen Milzbrandvarietäten von einander zu unterscheiden, lieferte keine befriedigenden Resultate. Die Kulturen waren in der Regel nicht durch so markante Farbunterschiede charakterisiert, dass man davon zu differentialdiagnostischen Zwecken hätte erfolgreichen Gebrauch machen können.

Viel erörtert und viel umstritten ist schliesslich die Frage der Sporenbildung. Es haben nun, um dies von vornherein zu erklären, alle Kulturen, sowohl meine eigenen als auch die Pasteur'schen, über diese Fähigkeit verfügt, mit einziger Ausnahme des völlig abgeschwächten Milzbrand I. Ob Differenzen in der Ausgiebigkeit und Schnelligkeit der Sporenbildung bestanden, vermag ich nicht zu sagen, wenigstens sind bei der gewöhnlichen Art der Feststellung, der Untersuchung im hängenden Tropfen, irgendwie bemerkenswerte Unterschiede nicht zu Tage getreten. Milzbrand I bildete weder auf Agar noch auf der Oberfläche gekochter Kartoffelscheiben Sporen und liess nach mehrtägigem Wachstum lediglich gequollene, im Zustande der Degeneration befindliche Stäbchen erkennen, jede Andeutung sporenähnlicher Gebilde vermissen.

Ich hatte geglaubt, diese Beobachtungen über Virulenz, morphologisches, biologisches und kulturelles Verhalten meiner Kulturen etwas ausführlicher wiedergeben zu sollen, weil die in der Litteratur zerstreuten Angaben über die Eigenschaften abgeschwächter Milzbrandarten gerade in wichtigen Punkten auseinander gehen, und begreiflicherweise durch derartige Differenzen auch die weiteren Versuche in entscheidender Weise beeinflusst werden. Als besonders bedeutsam möchte ich daher nochmals die abweichenden Merkmale betonen, welche zwischen meinen eigenen und den Pasteur'schen Kulturen zu Tage traten und z. B. ohne Weiteres eine Unterscheidung zwischen Milzbrand III und Pasteur's Vaccin I gestatteten, obwohl beide Kulturen von annähernd gleicher Virulenz waren. Dasselbe gilt von dem virulenten Milzbrand und dem Vaccin II (Pasteur). Wir müssen uns nach diesen Befunden offenbar vorstellen, dass Milzbrandrassen existieren, welche eben durch gewisse, nicht allzu erhebliche Abweichungen von dem als typisch anerkannten Verhalten zu unsern gebräuchlichen Kulturmedien ausgezeichnet sind, dass einer derartigen Rasse auch die beiden Pasteur'schen Vaccins angehörten, die geschilderten Eigenschaften also nicht auf den Akt der Abschwächung zurückzuführen seien, vielmehr bereits wohl ausgeprägten

---

1) Zeitschr. f. Hyg., VI.

Eigentümlichkeiten der virulenten Stammkultur ihre Entstehung verdankten, oder aber wir haben es mit einer, in gewissem Sinne degenerativen Erscheinungsform zu thun, welche sich erst ganz allmählich, vielleicht nach jahrelanger Fortzüchtung, auszubilden vermag und deshalb in abgeschwächten Kulturen jüngeren Alters, wie den meinigen, noch vermisst zu werden pflegt.

C. Aktive Immunität.

Mit Hülfe dieser Vaccins ging ich zunächst an die Aufgabe, geeignete Tiere aktiv zu immunisieren. Die allgemeine Erfahrung wies von vornherein auf Schafe, Rinder und ev. Kaninchen hin, wogegen eine Immunisierung von Meerschweinchen oder gar Mäusen nach den schon so vielfach missglückten Versuchen als ein ziemlich aussichtsloses Unternehmen angesehen werden musste.

Wenn ich mich dennoch darum bemüht habe, so geschah dies hauptsächlich deshalb, weil ich über die theoretisch wichtige und interessante Frage Aufschluss zu erlangen suchte, ob bezw. bis zu welcher Grenze eine aktive Immunisierung der erwähnten beiden Tierarten durch möglichst sorgfältige Dosierung und vorsichtige Virulenzsteigerung mit Hülfe allmählich abgestufter Milzbrandvaccins überhaupt erreicht werden könnte. Vor allen Dingen glaubte ich hoffen zu dürfen, dass man bei Meerschweinchen die Widerstandsfähigkeit vielleicht bis zur Unempfänglichkeit für Pasteur's Vaccin I steigern könnte. Auch diese Hoffnung hat sich, wie die folgende Tabelle III wohl ohne weiteres darthut, als trügerisch herausgestellt. Der einzige Erfolg – wenn von einem solchen überhaupt die Rede sein darf — ist bei günstiger Beurteilung lediglch darin zu erblicken, dass einzelne Meerschweinchen noch geringe Dosen des Milzbrand III überstanden oder erst einige Stunden und Tage später erlagen, als dies bei unbehandelten Tieren der Fall. Die Impfung mit Vaccin I (Pasteur) überlebte kein einziges. Bei Mäusen ist von irgend welcher günstigen Beeinflussung, wie die Tabelle zeigt, nicht die Rede.

Demgegenüber gelingt die Immunisierung von Kaninchen, wie durch die Untersuchungen Roux's und Chamberland's[1]) zuerst sicher festgestellt, ohne Schwierigkeit, wenn man in vorsichtiger Weise zu Werke geht.

Frühere Misserfolge hatten offenbar ihren Grund in der Anwendung ungeeigneter Impfstoffe. An späterer Stelle (Tabelle VIII) sind mehrere derartige Versuche aufgeführt, welche den von mir mit Erfolg geübten Gang der Behandlung illustrieren sollen. Schon Roux hatte darauf hingewiesen, dass zwar die beiden Pasteur'schen Vaccins in der für die Schutzimpfung von Rindern und Schafen ge-

1) a. a. O.

bräuchlichen Form der Anwendung zur Erzielung sicherer Immunität im allgemeinen genügen, die Verluste bei der Impfung aber immerhin recht erhebliche seien. Auch Marchoux[1]) hat die Erfahrung neuerdings bestätigt und möglichst langsame Steigerung der Immunität durch wiederholte Behandlung mit dem gleichen Vaccin empfohlen. Auch in meinen Versuchen sind bei völlig gleicher Vorbehandlung eine Reihe von Tieren der Probeinfektion mit virulentem Milzbrand erlegen, wenn auch der Verlust kein allzu erheblicher war. Die Schutzimpfungen wurden in 12tägigen Intervallen ausgeführt, die Injektionen virulenten Milzbrandes von 8 zu 8 Tagen wiederholt. Besondere Aufmerksamkeit erfordert hierbei die sorgfältige Kontrolle des Körpergewichts und Allgemeinzustandes der Versuchstiere, welche es gebietet, mit den Injektionen auszusetzen, sobald eine stärkere Gewichtsabnahme oder auffällige Abmagerung, Trägheit u. s. w. sich geltend macht, wogegen sowohl die Beobachtung der scheinbar regellos schwankenden Körpertemperatur, wie die der Lokalerscheinungen nur einen Massstab von zweifelhafter Brauchbarkeit abgiebt. Es zählt garnicht zu den Seltenheiten, dass die immunisierten Tiere nach der Injektion des II. Vaccin (Pasteur) oder des virulenten Milzbrandes sehr ausgedehnte Infiltrationen an der Injektionsstelle aufweisen, — bei unbehandelten Tieren ein absolut untrügliches Zeichen des drohenden Exitus — welche nach Verlauf einiger Zeit unter Abscessbildung oder Hinterlassung derber knotiger Verdickungen der Haut wieder zurückgehen.

Auf die aktive Immunisierung von Schafen werde ich an späterer Stelle noch näher einzugehen haben.

D. Passive Immunität.

Was die passive Milzbrandimmunität anbelangt, so bot sich mir für die ersten Versuche, welche ich mit dem Blute künstlich immunisierter Tiere anzustellen gedachte, willkommene Gelegenheit, indem in der allernächsten Umgebung der Stadt Halle an einer grösseren Anzahl von Rindern Milzbrandschutzimpfungen nach dem Pasteur'schen Verfahren (Vaccin I und II in 12tägigen Intervallen) ausgeführt worden waren. Anlass zu diesem Eingriff hatten die nicht ganz seltenen Milzbranderkrankungen und Todesfälle gegeben, welche im Laufe des vergangenen Sommers gerade in hiesiger Gegend aufgetreten waren und unter dem Rinderbestande mehrerer Höfe nicht unerhebliche Opfer gefordert hatten. Durch das bereitwillige Entgegenkommen des Herrn Kreistierarztes Enke, welcher die Impfungen vollzogen hatte, ist es mir möglich gewesen, mehreren dieser Rinder nach einer gewissen Zeit Blut zu entnehmen und für die Zwecke

1) a. a. O.

meiner Untersuchungen zu verwerten. Unter Berücksichtigung der allgemein beobachteten Thatsache, dass die in dem Blute immunisierter Tiere auftretenden Schutzstoffe keineswegs sogleich oder dauernd vorhanden zu sein, vielmehr früher oder später wieder zu verschwinden pflegen, musste es von besonderem Interesse sein, das Blut der betr. Tiere in verschiedenen Intervallen nach der letzten Impfung zu untersuchen. Ich habe daher nach 15 Tagen (Rind I und II) 35 Tagen (Rind III und IV) und 70 Tagen (Rind V) Blutproben entnommen und auf ihre immunisierenden Eigenschaften geprüft.

Es muss ohne weiteres zugegeben werden, dass dieser Versuchsanordnung ein Mangel anhaftet und vom Standpunkte strenger Kritik die sichere Beweiskraft abgesprochen werden könnte, insofern, als die der Schutzimpfung unterworfenen Rinder nicht auf eine nun auch wirklich vorhandene Immunität gegenüber virulentem Milzbrand geprüft worden waren. Aus leicht einzusehenden Gründen war indessen eine derartige Kontrolimpfung nicht zu leisten und ich musste mich mit der Überzeugung begnügen, dass auch in diesen Fällen die Vorbehandlung mit den beiden Pasteur'schen Vaccins den durch zahlreiche Versuche sicher gestellten Erfolg gehabt und eine Immunität gegen Impfmilzbrand bewirkt hatte. Der Ausfall meiner Versuche ist in Tabelle IV, V und VI mitgeteilt. Zur Ausführung derselben möchte ich mir einige wenige Bemerkungen gestatten.

Das abgeschiedene Serum wurde möglichst frisch, vor Zusatz irgend eines Desinficiens, in Benutzung genommen und alsbald den Versuchstieren injiciert. Dabei beobachtete ich die speziell für den Milzbrand mehrfach betonte, aber auch nach unseren jetzigen Anschauungen und Erfahrungen bei derartigen Versuchen selbstverständliche Vorsicht, Serum- und Milzbrandinjektion an möglichst getrennten Stellen des Körpers vorzunehmen. Für gewöhnlich injicierte ich daher das Blutserum unter die Bauchhaut, die virulente Kultur 24 Std. später unter die Rückenhaut, bei Kaninchen und Meerschweinchen in die Nacken-, bei Mäusen in die Schwanzgegend. Auch damit hat man freilich keineswegs die Sicherheit, dass die Bakterien nun etwa einer direkten Schädigung durch das Serum entzogen sind. Immerhin hielt ich dieses Verfahren für zweckmässiger als das umgekehrte, wobei die prophylaktische Impfung am Rücken, die Milzbrandinjektion auf der Bauchseite vorgenommen wird, da ich garnicht selten, namentlich bei der Verwendung von Rinderserum, die Beobachtung machen konnte, dass sich nach der Injektion grösserer Serummengen (4,6 u. s. w. ccm) eine deutlich fühlbare Infiltration der Bauchhaut entwickelte, auch wenn die Tiere am Rücken geimpft worden waren.

Ueberblickt man das Resultat dieser Versuche, so kann ohne Zweifel von einer spezifischen Schutzwirkung, wie wir sie bei dem Blute immunisierter Tiere zu sehen gewohnt sind, überhaupt keine Rede sein. Weder 15 noch 35 oder 70 Tage nach Ablauf der Behandlung verrät das Blut der geimpften Rinder Eigenschaften, welche mit Bestimmtheit auf die Wirksamkeit spezifischer Antikörper zurückgeführt werden könnten. Damit soll keineswegs gesagt sein, dass die Injektionen ohne jeden Einfluss auf den Verlauf der Milzbrandinfektion gewesen wären.

Eine, allerdings kleine Zahl von Kaninchen ist am Leben geblieben, andere Tiere sind erst sehr verspätet, nach vielen Tagen, erlegen, wieder andere endlich liessen in dem Sektionsbefund Verhältnisse zu Tage treten, welche wohl fraglos auf die Art der Vorbehandlung bezogen werden mussten. Indessen bei näherem Zusehen zeigt es sich ohne Weiteres, dass diese Erfolge nicht etwa einen regelmässigen Charakter tragen oder gar in gesetzmässigen Beziehungen zu der Art und Dosis des injicierten Serums stehen, vielmehr greifen hier offenbar Vorgänge Platz, welche als ganz willkürliche, einer spezifischen Serumwirkung durchaus widersprechende erscheinen. So könnte man beispielsweise nach der Wirkung bei gleichzeitiger und vorangehender Injektion (Tab. IV. Kaninchen 8, 13, 17, 18.) auf die Vermutung kommen, als besässe Serum II gewisse, wenn auch schwache schützende Eigenschaften, doch wird man alsbald eines besseren belehrt, sobald man neben der Ungleichheit dieser Erfolge den Ausgang der Infektion bei Kaninchen 3 und 4 berücksichtigt. Trotzdem hier die Serumdosis die gleiche war, erlagen beide Tiere einer weit schwächeren Infektion, welche nicht einmal die mit normalem Serum vorbehandelten Kontrolltiere zu töten vermochte! Ebenso auffällig muss es erscheinen, wenn Serum III in der Dosis von 6 ccm ein Kaninchen (Tab. V. No. 2) 15 Tage am Leben zu erhalten vermag, dagegen 3 ccm des gleichen Serums noch hinter der Wirkung normalen Serums nicht unerheblich zurückbleiben. Dass auch hier nicht spezifische Eigenschaften des Serums von Bedeutung sein können, geht ganz unmittelbar aus dem Verhalten der Kaninchen 7 und 8 hervor, welche gleichzeitig mit den Kontrolltieren der Milzbrandinfektion erlagen. Die übrigen Serumarten, No. I, IV. und V, geben keine Veranlassung zu weiteren Bemerkungen; über einen höheren Impfschutz als die entsprechenden Kontrolltiere verfügten die damit behandelten Kaninchen in keinem Falle. Wenn 2 ccm des Serums No. V (Tab. VI. Kaninchen No. 1.) ein Tier zu retten vermochten, so wird dieser scheinbare Erfolg dadurch illusorisch, dass höhere Serumdosen versagten und auch eins der Kontrolltiere am Leben blieb.

Bei Meerschweinchen und Mäusen ist, um auch dies hervorzuheben, bei gleichzeitiger oder vorhergehender Seruminjekton im

günstigsten Falle nie etwas anderes erzielt worden, als ein wenig verzögerter Verlauf der Infektion, wie ihn auch die Behandlung mit normalem Rinderserum häufig genug zur Folge hatte.

Man wird nach alledem wohl nicht fehlgehen, wenn man die Schutzwirkung, welche die geprüften Serumarten, ebenso wie das Serum unbehandelter und für Milzbrand vollempfänglicher Rinder, innerhalb gewisser Grenzen ausübten, nicht als eine „immunisierende" im spezifischen Sinne auffasst, sondern auf eine Stufe stellt mit jenen bereits besprochenen Erscheinungen erhöhter Resistenz, wie sie bei einer Reihe anderer Infektionen gleichfalls durch das Serum normaler Tiere ausgelöst werden können.

Dass wir in der That einen derartigen Zustand, bei welchem auch gewisse zufällige Einflüsse lokaler Resistenz eine Rolle spielen mögen, nicht mit einer Äusserung spezifischer Immunität verwechseln dürfen, geht wohl sicherlich aus dem Umstande hervor, dass sämmtliche überlebenden Tiere 20—30 Tage später einer erneuten Infektion mit geringen Mengen virulenten Milzbrandes ohne weiteres zum Opfer fielen!

Noch eine Bemerkung über den Sektionsbefund. Auch hier beobachtete ich häufig Verhältnisse, wie ich sie bereits an früherer Stelle angedeutet habe. An der Injektionsstelle nur geringe entzündliche Erscheinungen, im Blute, speziell in der Milz, spärliche z. T. degenerierte Formen von Milzbrandbacillen — das war gewöhnlich der Ausdruck eines länger dauernden Kampfes zwischen dem tierischen Organismus und den eingedrungenen Infektionskeimen.

Namentlich aber wurden in nicht allzu seltenen Fällen die gleichfalls schon erwähnten Granula gefunden, Elemente, welche eine ganz auffällige Uebereinstimmung mit den bei der „Pfeiffer'schen Reaktion" entstehenden Umwandlungsformen der Cholera-, Typhus- u. s. w. Bakterien zu erkennen gaben. Ich möchte nicht mit Sicherheit zu entscheiden wagen, ob es sich hier wirklich um identische Dinge handelt — es wäre nicht ausgeschlossen, dass vielleicht zellige Zerfallsprodukte vorlagen — anderseits aber zu Gunsten des bakteriellen Ursprungs jener Gebilde die Thatsache betonen, dass sie sowohl im gefärbten Praeparat wie im hängenden Tropfen ganz täuschend an die Pfeiffer'schen Granula erinnerten und dass mitunter in Fällen, welche bei mikroskopischer Untersuchung neben derartigen Granula kaum noch, oder höchstens ganz vereinzelt, Milzbrandstäbchen aufwiesen, die Kultur einen überraschend üppigen Rasen zur Entwickelung gelangen liess.

Nach den bisherigen, absolut negativen Resultaten ergriff ich gern die mir gebotene Gelegenheit, das Blut zweier Rinder zu untersuchen, welche eine spontan aquirierte Milzbranderkrankung überstanden und damit, wie man wohl annehmen durfte,

einen hohen Impfschutz erlangt hatten. Auch in diesen Fällen war eine Probeinfektion ausgeschlossen. Die Rinder entstammten einem Stalle, in welchem zu gleicher Zeit fast sämtliche übrigen Tiere an Milzbrand erkrankt und eingegangen waren.

Näheres über den Verlauf der Versuche ergiebt Tabelle VII. Man sieht ohne Weiteres, dass auch hier zwar eine gewisse günstige Beeinflussung, aber keine Spur einer spezifisch immunisierenden Wirkung zu erzielen war. Von den scheinbaren Erfolgen mit Serum VII. gilt das vorher gesagte.

Es war dieses Ergebnis, wie ich gestehen muss, doch immerhin etwas unerwartet und ein neuer Beweis für die nicht oft genug zu wiederholende Warnung, dass nirgends Analogieschlüsse so unstatthaft sind, als gerade auf diesem Gebiete bakteriologischer Forschung. Die Schutzstoffe, welche wir sonst im Blute von Tieren auf dem Wege künstlicher Immunisierung zu erzeugen vermögen, pflegen bei spontan erkrankten Individuen gleichfalls und zwar in besonders reichlichem Masse vorhanden zu sein. Dieses Gesetz scheint demnach für den Milzbrand keine Gültigkeit zu besitzen, obwohl ich mich auf Grund eines so geringen Untersuchungsmaterials keineswegs zu verallgemeinernden Schlussfolgerungen berechtigt halte.

Marchoux hatte betont, dass es nötig sei, die aktive Immunität der Tiere zu ausserordentlicher Höhe zu treiben, um ein wirksames Milzbrandserum zu erhalten. Dieser Forderung suchte ich nunmehr zu genügen, indem ich zunächst Kaninchen einer systematischen Behandlung mit virulentem Milzbrand in steigenden Dosen unterwarf (cf. Tab. VIII.) Erst nachdem die Tiere 1 ganze Öse ohne jede Erkrankung überstanden, entnahm ich ihnen Blut. Das abgeschiedene Serum der 6 Tiere wurde gemischt und in der angegebenen Weise geprüft.

Wie aus Tabelle IX. hervorgeht, war trotz der starken aktiven Immunität im Blute der Tiere kaum eine Andeutung spezifisch immunisierender Substanzen nachweisbar. 10 und 8 ccm vermochten zwar den Eintritt des Todes um 1—2 Tage zu verzögern, doch ist dies ein Erfolg, der um so weniger ins Gewicht fallen kann, als das mit 10 ccm normalen Kaninchenserums behandelte Kontrolltier sogar erst nach 5—6 Tagen zu Grunde ging.

Um die Versuche in grösserem Umfange ausführen zu können und vor allen Dingen möglichst reiche Serummengen zur Verfügung zu haben, musste ich an die Immunisierung grösserer Tiere denken. Ich hatte zu diesem Zweck 2 Hämmel gewählt, deren Immunisierungsprotokolle ich zunächst folgen lasse (Tab. X und XI). Der Gang der Immunisierung war bei beiden Tieren nicht ganz der gleiche. Bei Hammel I wurde die Steigerung der Virulenz in langsamerer Weise vollzogen, weil ich die Versuche bereits zu einer

Zeit begann, in der ich über das Verhältnis meiner Vaccins zur Virulenz der Pasteur'schen noch keine Kenntnis hatte und besonders vorsichtig zu Werke gehen musste. Zudem zwang eine intercurrente Erkrankung des Tieres, die Injektion eine Zeit lang auszusetzen. Hammel II ist rasch in steigenden Dosen und steigender Virulenz immunisiert worden, so dass er nach 2—2 ½ Monaten etwa die gleiche Menge virulenter Kultur erhalten konnte, wie der andere nach 4 Monate langer Behandlung. Die Injektionen der ersten schwächeren Vaccins wurden ohne irgendwie erhebliche lokale Reaktion unter geringer Temperaturerhöhung vertragen; erst bei Anwendung des Pasteur'schen Vaccins II machten sich lebhaftere Reaktionen bemerkbar. Als Ort der Impfung wurden Rücken- und Bauchhaut, sowie Gegend der Schenkelbeuge gewählt und in jedem einzelnen Falle besonders darauf Bedacht genommen, die [illegible] Injektionsstellen nach Möglichkeit zu wechseln. [illegible]

[illegible]

[illegible]

Tab. XII und XIII enthalten die Zusammenstellung der mit dem Serum ausgeführten Immunisierungsversuche.

Das mit Hammelserum I erzielte Resultat lässt sich in wenigen Worten erledigen. Die Vorbehandlung war absolut erfolglos; eine spezifisch immunisierende Wirkung machte sich in keinem einzigen Falle geltened, da selbst sehr erhebliche Serumdosen — bis zu 20 ccm — ohne jeden Einfluss blieben. Sämtliche Tiere gingen, wie die Kontrolltiere, an typischem Milzbrand zu Grunde. Nur 2 Kaninchen überlebten den Tod der letzteren um ca. 24 Stunden, eine Erscheinung, welche der Vergleich mit dem Schicksal der übrigen, z. T. mit höheren Serumdosen behandelten Tiere jedoch fraglos als eine rein zufällige erkennen lässt.

Demgegenüber kommen dem Blute des anderen Hammels unzweifelhaft schützende Eigenschaften zu. Schon Mengen von 4 ccm genügten, um den Kaninchen sowohl bei vorhergehender als auch bei gleichzeitiger Injektion einen gewissen Impfschutz zu verleihen. Wenn dieser auch in keinem Falle stark genug war, um das Leben der Tiere zu retten, so führte er immerhin zu einer Verzögerung des Todes, welche zwischen 24 Stunden und einer Anzahl von Tagen schwankte. Kaninchen 2 fiel der sonst mit Sicherheit in 34—42 Stunden tötenden Milzbrandinfektion erst nach 14 Tagen zum Opfer, 2 andere Tiere (No. 7 u. 8) bei gleichzeitiger Seruminjektion nach 6—7, bezw. 7—8 Tagen, Erfolge, wie ich sie gegenüber der angewendeten Milzbranddosis auf eine andere Weise bisher nicht beobachtet hatte. Allerdings liess die Wirkung des Serums jene strenge Gesetzmässigkeit, wie wir sie sonst bei den Immunsera gewöhnt sind, entschieden vermissen und statt dessen andere, individuelle Einflüsse in den Vordergrund treten, welche es offenbar erklären, dass in dem einen Fall (No. 10) 4 ccm Serum genügten, um den Verlauf der Infection wesentlich zu verzögern, wogegen sich in einem anderen Falle die höhere Dosis von 6 ccm als völlig wirkungslos erwies, dass ferner ein Tier (No. 2), welches 8 ccm erhalten hatte, erst nach 14—15 Tagen der Infection erlag, das mit 10 ccm vorbehandelte aber bereits nach 75—83 Std. Überhaupt ist es eine, fast in allen Versuchsreihen (Tab. XII, XIII, XIV, XVI) ziemlich gleichmässig zum Ausdruck gelangende, eigentümliche Beobachtung, dass es nicht die höchste Serumdosis ist, welche den sichersten Schutz verleiht, dass vielmehr eine Art Optimum der Serumwirkung zu existieren scheint, welches durch geringere oder auch höhere Serummengen nicht übertroffen werden kann. Ich bin weit davon entfernt, aus den wenigen Versuchen etwa ein derartiges Gesetz ableiten zu wollen und begnüge mich damit, diese auffällige, aber wohl auf Zufälligkeiten beruhende Thatsache hervorzuheben und daran zu er-

innern, dass ganz ähnliche Verhältnisse von Löffler und Abel[1]) gelegentlich für das Blutserum von Hunden ermittelt werden konnten, welche gegen Bact. coli immunisiert worden waren.

Worauf die erheblichen Differenzen in der Wirksamkeit des Blutserums von Hammel I und II zurückzuführen waren, vermag ich nicht zu sagen. Am nächsten liegt es wohl, hierfür die verschiedene Art der Immunisierung verantwortlich zu machen, doch mögen auch individuelle, Alters- oder Rassenunterschiede der immunisierten Tiere von Einfluss gewesen sein.

Mit dem Hammelserum II bei Meerschweinchen und Mäusen die Milzbrandinfection zu bekämpfen, musste nach diesen Erfolgen als ein aussichtsloses Unternehmen angesehen werden. Dennoch entschloss ich mich, Immunisierungsversuche an den genannten Tierarten vorzunehmen, allerdings in etwas modifizierter Form. Nicht gegen virulenten Milzbrand wollte ich die Tiere zu schützen versuchen, sondern gegen diejenige Stufe des abgeschwächten Milzbrandes, welche gerade noch mit Sicherheit ihren Tod bewirkte. Als derartige Kulturen wählte ich für Meerschweinchen Vaccin I (Pasteur), für Mäuse Milzbrand III. Auch hier versagte das Serum, wie ein Blick in Tab. XIII, B. und C., lehrt, bei Mäusen vollständig und, wie es scheint, auch bei Meerschweinchen, denn der gleiche, ja sogar höhere Schutz, wie ihn die vorbehandelten Tiere an den Tag legten, war dem Kontrolltier durch die Injection normalen Hammelserums verliehen worden.

Es hatte somit das Blutserum eines Tieres, welches als hochimmun angesehen werden musste, nur Andeutungen spezifisch immunisierender Wirksamkeit erkennen lassen. Diese Beobachtungen stehen nicht in Einklang mit den Resultaten Sclavo's[2]) und Marchoux's[3]), welche, wie erwähnt, durch Mengen von 1—2 ccm Kaninchen vor dem sicheren Tode bewahrt haben wollen und dem Milzbrandserum sogar heilende Wirkungen nachrühmen. Indessen möchte ich schon an dieser Stelle betonen, dass die Angaben der genannten Autoren keineswegs untereinander übereinstimmen, sondern gerade in wichtigen Punkten Differenzen aufweisen.

Da die Versuchsanordnung, Wahl der Versuchstiere, Herkunft des Serums u. s. w. sich im wesentlichen mit dem auch von mir geübten Verfahren deckte, so lag es nahe für die bestehenden Differenzen die Beschaffenheit des Serums oder der Kulturen verantwortlich zu machen. Entweder war das von mir geprüfte Serum ein zu geringwertiges, d. h. die Immunität der Schafe noch nicht zu der von Marchoux geforderten Höhe getrieben, oder aber es mussten

1) Centralbl. f. Bakt. und Parasitenk. XIX.

2) a. a. O.

3) a. a. O.

Unterschiede in der Virulenz der Milzbrandkulturen vorhanden sein, welche bei der verschiedenen Art der Dosierung vielleicht in besonders prägnanter Weise zum Ausdruck gelangten.

Zwar hatten Sclavo und Marchoux die Serum liefernden Tiere mit noch grösseren Milzbrandmengen — mehreren Agarkulturen auf einmal — immunisiert, doch muss ich gestehen, dass ich diesem Umstande keine allzu grosse Bedeutung beizumessen geneigt bin. Ohne auf Analogien mit anderen Infectionskrankheiten näher eingehen zu wollen, möchte ich dennoch die Thatsache nicht unerwähnt lassen, dass spezifische Blutveränderungen bei künstlich immunisierten Tieren schon sehr früh, nach wenigen Injectionen, vorhanden und deutlich nachweisbar zu sein pflegen. Ja es genügt, wie wir wissen, bei einzelnen Infectionen (Cholera, Typhus) die einmalige Injection abgetödteter Kultur, um eine lebhafte spezifische Reaktion des Tierkörpers zu bewirken. Ein so erheblicher Grad von Impfschutz, wie ihn die fast reaktionslose Bewältigung einer ganzen Agarkultur virulenten Milzbrandes darstellt, müsste also wohl nach sonstigen Erfahrungen zur Erzeugung spezifischer Antikörper ausreichend sein. Weit eher glaubte ich mit der Möglichkeit rechnen zu müssen, dass individuelle Verschiedenheiten der immunisierten Tiere die wechselnde Qualität des gelieferten Serums bedingten, indem ich mich dabei der Pfeiffer'schen Beobachtung erinnerte, dass trotz gleichmässiger, lang dauernder Vorbehandlung mit Typhuskulturen einzelne Ziegen ohne bemerkenswerte Veränderung der Blutbeschaffenheit bleiben, andere ein überaus wirksames Typhusserum produzieren können. Auch für den Milzbrand wären ähnliche Verhältnisse denkbar.

Jedenfalls beschloss ich die Immunisierung meiner Schafe noch weiter fortzusetzen und hoffe bald in der Lage zu sein, von neuem eine Prüfung des Serums vorzunehmen.

Unter diesen Umständen war es mir von grösstem Interesse eines der immunisierenden Milzbrandsera selbst zu prüfen, wozu mir durch das liebenswürdige Entgegenkommen des Herrn Dr. Sclavo Gelegenheit gegeben wurde. Ich erhielt von ihm ein Milzbrandserum, das einem hochimmunen Esel entstammte und sich als überaus wirksam erwiesen haben sollte. Allerdings glaubte Dr. Sclavo, wie er die Güte hatte, mir brieflich mitzuteilen, bereits eine geringe Abschwächung der Wirkung beobachtet zu haben.

Ich habe mit diesem Serum eine Reihe von Versuchen angestellt, welche ich in der folgenden Tabelle mitteile (Tab. XIV).

Auch hier tritt eine deutliche spezifische Wirkung zu Tage, welche ziemlich genau der bei meinem Milzbrandserum vorhandenen entsprechen dürfte und lediglich einen verzögerten Verlauf der Infection zur Folge hatte.

Keines der behandelten Tiere hat indessen die Milzbrandimpfung überstanden, obgleich ich die angegebene, sicher schützende Minimaldosis des Eselserums (1 ccm.) z. T. sehr erheblich überschritten hatte.

Es konnte nach diesen Ergebnissen keinen Zweifel mehr unterliegen, dass die Virulenz der von Sclavo, Marchoux und mir benutzten Milzbrandkulturen die Schuld an der Verschiedenheit der Resultate trug; und in der That wurde dieser Verdacht bei mir zur Gewissheit, als ich darauf hin die Sclavo'schen und Marchoux'schen Berichte einer erneuten aufmerksamen Durchsicht unterwarf. Sclavo giebt nämlich in seiner zweiten, bereits mehrfach citierten Veröffentlichung ausdrücklich an, dass er zwei virulente Milzbrandkulturen zur Verfügung gehabt habe, von denen eine (A.) Kaninchen nach Impfung mit 1 ccm 24 stündiger Bouillonkultur in 40—55 Std. tötete, während die 2. Kultur (B.), als „ausserordentlich virulent" bezeichnet, in der gleichen Dosis bereits nach 18—24 Std. zum Tode führte. Die Angaben über die immunisierende Wirkung des Milzbrandserums erstreckten sich nun sämtlich auf Kultur A., wogegen das wirksamste Serum (Eselserum) selbst in Mengen von 5—10 ccm die Infektion mit Milzbrand B. nur um 6-7 Tage, gelegentlich etwas länger verzögern konnte. Es steht dieses letztere Ergebnis durchaus im Einklang mit meinen eigenen Ermittelungen und ich halte es für höchst wahrscheinlich, dass es sich bei der Kultur A. um einen in seiner Pathogenität entschieden geschwächten Milzbrand gehandelt hat, umsomehr, als auch die Wirkung einen deutlich verlangsamten Verlauf zu erkennen gab.

Ähnlich verhält es sich mit den Resultaten Marchoux's. Auch hier findet sich der Schlüssel zu den so überraschend günstigen Erfolgen in seinen eigenen Angaben. Marchoux macht nämlich, mehr beiläufig, die sehr folgenschwere Bemerkung, dass das Serum nur bei einer Infection mit Milzbrandbacillen, nicht aber bei einer solchen mit Sporen schützend und heilend eingreife. Tiere, welche selbst Dosen von 5, 10, 12 ccm wirksamsten Serums erhalten hatten, überlebten eine Sporeninfection zwar länger als die Kontrolltiere, gingen aber ausnahmslos nach wenigen Tagen an typischem Milzbrand zu Grunde. Bei dieser, den Angaben Sclavo's übrigens durchaus widersprechenden Beobachtung ist es nicht recht zu verstehen, dass der gewöhnlich benutzte Milzbrand, dessen 24 stündige Bouillonkulturen nach Marchoux's eigenen Worten niemals sporenfrei waren, so stark durch das Milzbrandserum beeinflusst werden konnte. Man müsste denn gerade der Menge der Sporen eine bestimmende Rolle zuschreiben. Da auch meine Aufschwemmungen in der Regel eine gewisse Anzahl von Sporen enthielten, glaubte ich im Hinblick auf diese Befunde, doch noch einen Versuch mit sicher sporenfreiem,

aber vollvirulentem Material machen zu sollen, und habe eine Reihe von Kaninchen, nach Vorbehandlung mit Hammelserum II., mit geringen Spuren frischen Blutes eines an Milzbrand gestorbenen Kaninchens geimpft. Der Erfolg (Tab. XV.) war der gleiche wie bei Anwendung meiner Agaraufschwemmungen. Kein Tier blieb am Leben.

Noch in Kürze möchte ich schliesslich einiger Versuche Erwähnung thun, in welchen ich es mir zur Aufgabe gemacht hatte, gewissen anderen, sonst dem Serum immunisierter Tiere eigenen Kräften nachzuforschen. Der mikroskopische Sectionsbefund schien dafür zu sprechen, dass die Entwickelung der Milzbrandbacillen in den inneren Organen, speziell der Milz vorbehandelter Tiere nicht in ungehinderter Weise wie bei normalen Tieren vor sich gehen könne. Daher suchte ich festzustellen, inwieweit etwa das Serum immunisierter Tiere durch baktericide Fähigkeiten ausgezeichnet sei. Die Versuchsanordnung war hierbei die gewöhnliche. Eine Anzahl von Reagensgläschen wurde mit je 2 ccm der zu untersuchenden Serumart gefüllt und nun mit gewissen Mengen junger, 12 stündiger Milzbrandkulturen geimpft. Von Zeit zu Zeit wurde mit Hülfe des Agarplattenverfahrens der Keimgehalt der Röhrchen kontrolliert.

Tab. XVI lehrt, dass schon das Serum normaler Kaninchen und auch Hämmel unter Umständen deutlich entwicklungshemmende Wirkung auszuüben im Stande und dass von einer Steigerung dieser Fähigkeit im Blute immmunisierter Tiere nichts zu merken ist. Ebensowenig übertrifft das Serum milzbrandimmuner Rinder das normale Rinderserum an baktericidem Wert. Es bestätigen diese Resultate im wesentlichen die bereits von anderer Seite (Behring und Nissen[1]), Pane[2]) u. a.) mitgeteilten Beobachtungen.

Noch über eine weitere Eigenschaft der Immunsera, welche besonders im Laufe des letzten Jahres die erhöhte Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt hat und unter dem Namen der „Agglutination" bekannt geworden ist, suchte ich bei dem Milzbrandserum Aufschluss zu erlangen. Allerdings bietet die Beobachtung dieses Vorganges, welcher dadurch charakterisiert ist, dass das betr. Immunserum die einzelnen Elemente der zugehörigen Bakterienart, also z. B. Typhusserum Typhusbacillen, bei der Vermischung sofort unbeweglich macht und zu dichten Haufen zusammenballt, gerade bei den Milzbrandbacillen deshalb gewisse Schwierigkeiten, weil es sich hier um einen Mikroorganismus handelt, der schon normaler Weise der Fähigkeit der Eigenbewegung ermangelt und in Form von grösseren Verbänden und Knäueln zur Entwickelung gelangt. Ich habe denn

---

1) Zeitschr. f. Hyg., VIII.
2) a. a. O.

Tab. IV.

Rind I (Kuh)
Impfung mit Pasteur's Vaccin I und II, erkrankte nach der ersten Impfung.
Blutentnahme: 20 Tage nach der letzten Schutzimpfung.
Rind II (Ochse)
Impfung mit Pasteur's Vaccin I und I I. Keine Erkrankung nach den Injektionen.
Blutentnahme: 20 Tage nach der letzten Schutzimpfung.

Prüfung des Blutserums.

A. Kaninchen.

No.	Gewicht in g	Vorbehandlung	Infektion	Bemerkungen.
1	780	3 ccm Serum I	Nach 24 Std. $^1/_{10,000}$ Öse Milzbrand vir.	† 48 Std. typischer Befund
2	790	6 ccm Serum I		† 20—24 Std. Milz wenig geschwollen. Vereinzelte Milzbr.-Bac. Starke Coccidiose der Leber.
3	880	3 ccm Serum II		† 62—70 Std. Typischer Befund.
4	980	6 ccm Serum II		† 17 Tage. Milzschwellung vorhanden. Kein Ödem. Milzbr.-Bac. in gering. Zahl
5	820	3 ccm Normal-Rinderserum		Lebt noch nach 20 Tagen.
6	800	6 ccm Normal-Rinderserum		desgl.
7	850	5 ccm Serum I	Nach 24 Std. $^1/_{1000}$ Öse Milzbrand vir.	† 19 Tage
8	710	5 ccm Serum II		† $6^1/_2$ Tage
9	900	5 ccm normal. Rinderserum		† 22 Tage
10	1300	2,5 ccm Serum I	Nach 24 Std. $^1/_{100}$ Öse Milzbrand vir.	† 56—62 Std. Gewöhnlicher Befund, ziemlich reichlich Milzbr.-Bac.
11	1170	5 ccm Serum I		† 56—62 Std. Gewöhnlicher Befund, Milzbr.-Bac. spärlich.
12	1100	2,5 ccm Serum II		† 49 Std. desgl.
13	1140	5 ccm Serum II		† 8 Tage. Milzschwellung, Milzbr.-Bac. in mässiger Zahl. Kein Ödem.
14	1660	3 ccm normal. Rinderserum		† 56—62 Std. Gewöhnl. Befund. Milzbr.-Bac. in mässiger Zahl.
15	850	2 ccm Serum I	Gleichzeitig $^1/_{10,000}$ Öse Milzbrand vir.	† 58 Std. Typischer Befund.
16	1350	4 ccm Serum I		† 80—88 Std. Milzschwellung, ganz vereinzelte Bacillen sichtbar.
17	890	2 ccm Serum II		Lebt noch nach 30 Tagen.
18	1150	4 ccm Serum II		† 104—112 Std. Typischer Befund, massenhaft Milzbr.-Bac.
19	1440	4 ccm normal. Rinderserum		† 23 Tage!

B. Meerschweinchen.

No.	Gewicht in g	Vorbehandlung	Infektion	Bemerkungen.
1	240	2 ccm Serum I	Nach 24 Std. $^1/_{100,000}$ Öse Milzbrand vir.	† 72 Std. Milzschwellung, Ödem. Milzbr.-Bac. in mässiger Zahl.
2	220	4 ccm Serum I		† 76 Std. Gewöhnlicher Befund.
3	260	2 ccm Serum II		† 65 Std. Milzschwellg. mässigen Grades, Milzbr.-Bac. nicht sehr reichlich.
4	230	4 ccm Serum II		† 58—66 Std. Milzschwellung, Ödem, Ganz spärl. Milzbrand-Bac.
5	230	4 ccm normal. Rinderserum		† 75 Std. Gewöhnlicher Befund.
6	250	2 ccm Serum I	Gleichzeitig $^1/_{10,000}$ Öse Milzbrand vir.	† 50—52 Std. Gewöhnlicher Befund.
7	240	2 ccm Serum II		† 6—7 Tage. Typischer Befund, zahlr. Milzbrand-Bac.
8	260	2 ccm normal. Rinderserum		† 56 Std. Gewöhnlicher Befund.

allen Dingen aber müsste man für diesen Zweck über ein Serum von antitoxischen, giftzerstörenden. Fähigkeiten verfügen, da nur mit einem solchen, nach allgemeiner Erfahrung, Heilerfolge erzielt werden können. Wie es hiermit bei der Milzbrandimmunität steht, wird aber so lange noch eine offene Frage bleiben müssen, bis wir über die Existenz oder gar die Natur eines „Milzbrandgiftes" bessere Kenntnisse als bisher besitzen. Auch von einem Milzbrandserum, das zu prophylactischer Anwendung empfohlen und in die Praxis eingeführt werden sollte, wären eine Reihe von Eigenschaften zu verlangen, wie sie durch die bisherigen Versuche in keiner Weise erwiesen sind. Ein derartiges Serum müsste zunächst bei den in Frage kommenden Tierarten mit absoluter Sicherheit wirken und zwar in Dosen, welche zweckmässiger Weise nicht über ein gewisses Quantum hinausgehen dürften, es müsste über Haltbarkeit verfügen, der Impfschutz müsste durch Dauerhaftigkeit und Beständigkeit ausgezeichnet sein, nicht nach wenigen Tagen erlöschen und vor allen Dingen gegen die Sporeninfection, den wohl ausschliesslich in Betracht kommenden Modus der natürlichen, spontanen Milzbrandinfection, sich erstrecken. Von ausschlaggebender Bedeutung wäre schliesslich ein Punkt, den ich zu Beginn dieser Erörterungen kurz berührt hatte. Als wichtigstes Argument gegen die praktische Brauchbarkeit der auf Pasteur's Autorität sich stützenden Milzbrandschutzimpfungen ist bereits im Jahre 1884 von R. Koch und seinen Mitarbeitern die Thatsache hervorgehoben worden, dass die gegen subkutane Impfungen erzeugte Milzbrandimmunität keinen Schutz gegen eine stomachale Infection zu bieten vermag. Tiere, welche mehrfache Impfungen mit vollvirulenten Milzbrandkulturen überstanden hatten, erlagen der Fütterung mit Milzbrandsporen etwa in dem gleichen Verhältnis, wie unbehandelte Tiere, eine Thatsache, welche auch neuerdings in einer Beobachtung Sclavo's eine gewisse Bestätigung insofern gefunden hat, als ihm ein hochimmuner Hammel bei intravenöser Einführung einer vom Unterhautzellgewebe wirkungslosen Milzbrandmenge innerhalb weniger Tage an typischem Milzbrand zu Grunde ging. Jedenfalls müsste ein praktisch brauchbares Milzbrandserum die Infection auf dem Wege der Sporenfütterung mit Sicherheit verhüten können.

Wir werden uns hierbei freilich erinnern, dass die Koch'schen Versuche an einem Tiermaterial angestellt worden sind, das nicht über einen ungewöhnlich hohen Grad von Immunität verfügte, und es wäre immerhin denkbar und von Interesse, dass bei weitgehender Steigerung der Milzbrandimmunität sich auch gegenüber der Darminfection eine erhöhte Widerstandsfähigkeit bemerkbar machte. Ich habe daher 4 meiner hochimmunen Kaninchen zu einem derartigen

Experiment verwendet. Die Tiere wurden, nachdem sie ebenso wie 2 Kontrolltiere, 24 Stunden gehungert hatten mit Mohrrüben gefüttert, welche mit dem auf der Oberfläche gekochter Kartoffelscheiben zur Entwickelung gelangten Sporenrasen bestrichen waren. Die Kontrolltiere starben nach 3 bezw. 6 Tagen an typischem Darmmilzbrand, die 4 immunisierten Tiere überlebten. Nach circa 3 Wochen wurde der Versuch an den gleichen Tieren unter Hinzuziehung von 3 neuen Kontrolltieren in der nämlichen Weise wiederholt. Auch diesmal blieben die Tiere am Leben, ebenso eines der Kontrolltiere, während die beiden übrigen Kontrolltiere im Verlaufe von 3 Tagen der Infection erlagen. Der Erfolg ist scheinbar überaus günstig, und dennoch möchte ich ohne weitere Versuche in grösserem Umfange auf Grund dieser einen Beobachtung kein unvorsichtiges Urteil abgeben, zumal bei der 2. Impfung auch ein Kontrolltier die Infektion überstanden hat. Wir dürfen eben nicht vergessen, dass die stomachale Milzbrandinfektion überhaupt an Sicherheit des Erfolges zu wünschen übrig lässt, eine von vielen Seiten betonte Erfahrung, deren Richtigkeit ich schon früher durch einen kleinen Vorversuch hatte bestätigen können.

Von je 2 unbehandelten Kaninchen und Meerschweinchen waren nur 3 Tiere gestorben, ein Meerschweinchen dagegen am Leben geblieben.

Wenn ich zum Schluss das Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen nochmals in Kürze zusammenfassen darf, so möchte ich dies etwa in folgenden Sätzen thun:

Bei Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen besteht ein Unterschied in der Empfänglichkeit für vollvirulenten Milzbrand nicht. Derartige Kulturen wirken auf die genannten Tierarten in der gleichen Weise und mit absoluter Sicherheit, selbst in stärksten Verdünnungen, welche, soweit dies mit einiger Genauigkeit festzustellen ist, nur einen oder höchstens ganz vereinzelte lebensfähige Keime enthalten.

Der Verlauf der Infektion kann auf dem Wege der Dosierung beeinflusst, der Eintritt des Todes in systematischer Weise verzögert werden. Die Zahl der injizierten Keime ist hierbei das allein Ausschlag gebende Moment.

Gegenüber künstlich abgeschwächten Milzbrandkulturen macht sich bei den genannten Tierarten eine nach Art und Individuum wechselnde Empfänglichkeit bemerkbar, die Sicherheit der Wirkung lässt in Stich, die Dosierung versagt.

Eine aktive Immunisierung gegen vollvirulenten Milzbrand gelingt bei Kaninchen und Schafen, aber nicht bei Meerschweinchen und Mäusen.

Das Blut bezw. Blutserum künstlich immunisierter Tiere besitzt unter gewöhnlichen Verhältnissen nur die Fähigkeit, den Verlauf der Milzbrandinfektion bis zu einer gewissen Grenze durch Steigerung der natürlichen Resistenz günstig zu beeinflussen, aber keine spezifisch immunisierenden Eigenschaften. Die gleiche Fähigkeit kommt bereits dem Blute normaler Tiere zu.

Eine spezifische Blutveränderung giebt sich erst bei einzelnen Tieren zu erkennen, welche durch enorme Virusmengen eine aktive Immunität ungewöhnlich hohen Grades erlangt haben.

In diesen Fällen schützt das Milzbrandserum andere Tiere (Kaninchen) zwar nicht vor dem Tode, verzögert aber den Verlauf der Infektion um eine Reihe von Tagen.

Tab. I.

Milzbrand, virulent.

Kaninchen			Meerschweinchen			Mäuse		
No.	Infektion	Erfolg	No.	Infektion	Erfolg	No.	Infektion	Erfolg
1	$^{1}/_{10}$ Öse	† 24—28 Std.	1	$^{1}/_{100}$ Öse	† 28—34 Std.	1	$^{1}/_{100}$ Öse	† 29 Std.
2	$^{1}/_{100}$	† 34—42 Std.	2	$^{1}/_{1000}$	† 32—40 Std.	2	$^{1}/_{1000}$	† 32—40 Std.
3	$^{1}/_{1000}$		3	$^{1}/_{5000}$	† 36—44 Std.	3	$^{1}/_{10,000}$	
4	$^{1}/_{5,000}$	† 52—56 Std.	4	$^{1}/_{20,000}$	† 32—40 Std.	4	$^{1}/_{50,000}$	† 34—42 Std.
5	$^{1}/_{10,000}$	† 52 Std.	5	$^{1}/_{50,000}$	† 32—40 Std.	5	$^{1}/_{100,000}$	† 50—58 Std.
6	$^{1}/_{50,000}$	† 58—66 Std.	6	$^{1}/_{200,000}$	† 49 Std.	6	$^{1}/_{200,000}$	† 58—66 Std.
7	$^{1}/_{200,000}$	† 75—83 Std.	7	$^{1}/_{500,000}$	† 48—52 Std.	7	$^{1}/_{500,000}$	† 75—83 Std.
8	$^{1}/_{500,000}$	† 82—90 Std.	8	$^{1}/_{2,000,000}$	† 52—60 Std.	8	$^{1}/_{2,000,000}$	† 96 Std.
9	$^{1}/_{2,000,000}$	† 100-108 Std.	9	$^{1}/_{5,000,000}$	† 58—66 Std.	9	$^{1}/_{5,000,000}$	† 94 Std.
10	$^{1}/_{20,000,000}$	† 13—14 Tage	10	$^{1}/_{20,000,000}$	lebt	10	$^{1}/_{20,000,000}$	† 5—6 Tage

No.	1. Im
	Gew.
1	1250
2	1700
3	1630
4	1440
5	1240
6	1540

brand-

Tab. VIII.

[illegible] Immunisierung von Kaninchen [illegible]

Nr.	1. Impfung Gew.	1. Impfung Dosis	2. Impfung Gew.	2. Impfung Dosis	[illegible] Gew.	[illegible] Dosis	[illegible] Gew.	[illegible] Dosis	[illegible] Gew.	[illegible] Dosis	[illegible] Gew.	[illegible] Dosis	[illegible] Gew.	[illegible] Dosis	[illegible] Gew.	[illegible] Dosis	[illegible]
1	[illegible]	1/10 Öse Milzbrand II	[illegible]	1/10 Öse Milzbrand III	[illegible]	1/10 Öse Milzbrand (Pasteur) I Vaccin	[illegible]	1/10 Öse Milzbrand (Pasteur) II Vaccin	[illegible]	1/10 Öse Milzbrand (Pasteur) II Vaccin	[illegible]	[illegible] Öse Milzbrand [illegible]	[illegible]	[illegible] Milzbrand [illegible]	[illegible]	[illegible] Milzbrand [illegible]	[illegible]
2	[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		
3	[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		
4	144[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]
5	1240		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		
6	1540		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]		[illegible]

Tab. VIII.

Aktive Immunisierung von Kaninchen gegen vir. Milz

No.	1. Impfung		2. Impfung		3 Impfung		4. Impfung		5. Impfung		6. Impfung		7. Impfung		8. Impfung	
	Gew.	Dosis	Gew.	Dosis	Gew.	Dosis	Gew.	Dosis	Gew.	Dosis	Gew.	Dosis	Gew.	Dosis	Gew.	Dosis
1	1250	$^1/_{10}$ Öse Milzbrand II	1280	$^1/_{10}$ Öse Milzbrand III.	1350	$^1/_{10}$ Öse Milzbrand (Pasteur) I. Vaccin	1370	$^1/_{20}$ Öse Milzbrand (Pasteur) II. Vaccin	1420	$^1/_{10}$ Öse Milzbrand (Pasteur) II. Vaccin.	1440	$^1/_{10\cdot000}$ Öse Milzbrand vir.	1510	$^1/_{100}$ Öse Milzbrand vir.	1480	$^1/_{10}$ Öse Milzbrand vir.
2	1700		1730		1770		1760		1760		1785		1780		1770	
3	1630		1610		1680		1790		1790		1720		1870		1860	
4	1440		1480		1560		1540		1530		1530		1560		1530	
5	1240		1260		1210		1270		1230		1250		1260		1360	
6	1540		1500		1540		1500		1510		1480		1490		1490	

Tab. IX.

Immunisierungsversuch mit dem Blutserum aktiv gegen Milzbrand immunisierter Kaninchen.

Kaninchen.

No.	Gewicht	Vorbehandlung		Infektion	Bemerkungen
1	1070	10 ccm	Serum der immunisierten Kaninchen (cf. Tab. VIII)	Nach 24 Std. $^1/_{100}$ Öse Milzbrand vir. (unfiltr.)	† 48 Std. Typischer Befund.
2	1310	8 ccm			† 80--88 Std. Gewöhnl. Befund. Milzbrandbacillen spärlich.
3	1450	6 ccm			† 32—40 Std. Typischer Befund.
4	1270	4 ccm			† 32—40 Std. desgl.
5	1270	2 ccm			† 32—40 Std. desgl.
6	1080	10 ccm	Normal. Kaninchen-serum		† 5--6 Tage. desgl.
7	1170	5 ccm			† 32—40 Std. desgl.
8	1180	—			† 33—40 Std. desgl.

…jektion.	Temperatur. Morgens	Abends	Gewicht	Bemerkungen.
	40,0	39,6		
	39,4	39,6		Schwellung geringer.
	39,3	39,5		
	39,3	39,5	22,5 Kg	An d. Injektionsstelle noch fester Knoten fühlbar.
…Milzbr.vir. …tr., Bauch-haut.	39,4	39,6		
	39,7	40,1		
	40,2	39,9		Ganz kleiner derber Knoten a. d. Injektionsstelle.
	39.6	39,5		
	39,5	39,6		
	39,5	39,4		
	39,6	39,3		
	39,5	39,4	21,2 Kg	
	39,4	39,3		
	39,3	39,4		
…sen Milzbr. … unfiltr.	39,3	40,5	22,3 Kg	
	39,7	39,8		
	39,5	39,6		Starke Infiltration von ca. Faustgrösse, zieml. fester Konsistenz.
	39,7	40,0		
	39,3	39,4	22,0 Kg	Infiltrat an Ausdehnung wenig verändert, aber derber.
	39,5	39,5		
	39,4	39,5		Infiltrat stark verkleinert, harter Knoten und derbere Stränge noch zu fühlen.
…garkultur …lzbr. vir.	39,4	40,0		
	40,0	39,8		
	39,6	39,6		Infiltration von zieml. derber Konsistenz.
	39,5	39,4		
	39,6	39,5	21,5 Kg	
	39,4	39,6		
	: 9,5	39,3		Infiltr. fast ganz geschwunden, kleiner harter Knoten noch vorhanden.
	39,3	39,5		
	39,4	39,2		
	39,5	39,5	21,5 Kg	
	39,4	39,3		Aus der V. Iugularis werden **200 ccm. Blut** entnommen.
	39,1	39,3		
	39,3	39,4		

Tab. X

Inj

Öse
nfiltr.
haut

2 Ösen
nfiltr.
haut

Öse
filtriert
haut

Öse
unfiltr.
haut

Tab. X.

Hammel I.

Datum.	Injektion.	Temperatur Morgens	Abends	Gewicht	Bemerkungen.
10. Juli			39,4	15 Kg	
11. „		39,3	39,5		
12. „		39,3	39,2		
13. „		39,2	39,3		
14. „	½ Öse Milzbr. I. unfiltr., Rückenhaut links	39,3	39,8		
15. „		40,2	39,1		Keine lokale Reaktion.
16. „		39,9	39,5		
17. „		39,4	39,3	15,25 Kg	
18. „		39,5	39,4		
19. „		39,3	39,4		
20. „		39,5	39,3		
21. „		39,3	39,4		
22. „		39,5	39,3		
23. „		39,5	39,3		
24. „		39,0	39,4		
25. „		39,5	39,4		
26. „	2 Ösen Milzbr. I. unfiltr., Rückenhaut rechts.	39,3	39,9		
27. „		39,6	39,4	15,5 Kg	Ganz geringe Infiltration a. d. Injektionsstelle fühlbar.
28. „		39,5	39,3		
29. „		39,4	39,5		Infiltration ist völlig geschwunden.
30. „		39,3	39,4	16,75 Kg	
31. „		39,5	39,4		
1. August		39,5	39,3		
2. „		39,4	39,5		
3. „		39,3	39,4		
4. „		39,4	39,5		
5. „		39,5	39,4		
6. „		39,5	39,4		
7. „	1/100 Öse Milzbr. II filtriert. Bauchhaut rechts	39,4	39,9	18 Kg	
8. „		39,8	39,4		Geringe lokale Reaktion, harte Infiltration, ca. bohnengross.
9. „		39,4	39,5		
10. „		39,2	39,3		
11. „		39,3	39,4	18 Kg	
12. „		39,0	39,5		
13. „		39,0	39,5		An der Injektionsstelle noch ein kleiner, unempfindlicher Knoten zu fühlen.
14. „	¼ Öse Milzbr. II. unfiltr. Bauchhaut links	39,1	39,4		

Tab. XIII.

Immunisierungsversuch mit dem Blutserum von Hammel No. II.
(Blutentnahme am 7. XII. 96.)

A. Kaninchen.

No.	Gewicht	Vorbehandlung	Infektion	Bemerkungen
1	960	10 ccm Hammelserum No. II.	Nach 24 Std. 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 75—83 Std. Milzschwellung, Ödem gering, Milzbr.-Bac. zieml. spärlich.
2	990	8 ccm Hammelserum No. II.		† 14—15 Tage. Milz mässig vergrössert, reichliches Ödem, massenhaft Milzbr.-Bac.
3	1060	6 ccm Hammelserum No. II.		† 75—83 Std. Starke Milzschwellung, kein Ödem, zieml. zahlreiche Milzbr.-Bac.
4	1080	4 ccm Hammelserum No. II.		† 75—83 Std. Typischer Befund, zahlreiche Bacillen.
5	1090	10 ccm normal. Hammelserum.		† 45—47 Std. Typischer Befund.
6	1010	—		† 34 Std. Typischer Befund.
7	880	10 ccm Hammelserum No. II.	Gleichzeitig 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 6—7 Tage. Milz vergrössert, Ödem gering, zahlreiche Milzbr.-Bac.
8	910	8 ccm Hammelserum No. II.		† 7—8 Tage. Starke Milzschwellung, kein Ödem, Bacillen ganz vereinzelt.
9	890	6 ccm Hammelserum No. II.		† 32—40 Std. Gewöhnl. Befund, Milzbr.-Bac. spärlich.
10	890	4 ccm Hammelserum No. II.		† 100 Std. Milz vergrössert, Ödem gering, ziemlich zahlreiche Milzbr.-Bac.
11	950	10 ccm normal. Hammelserum.		† 32—40 Std. Gewöhnl. Befund, Bacillen spärlich.

B. Meerschweinchen.

No.	Gewicht	Vorbehandlung	Infektion	Bemerkungen
1	430	8 ccm Hammelserum No. II.	Nach 24 Std. 1/100 Öse Milzbr. (Pasteur) I. Vaccin (unfiltr.)	† 6—7 Tage. Starke Milzschwellung, kein Ödem, ganz massenhaft Bacillen.
2	410	6 ccm Hammelserum No. II.		Bleibt leben.
3	380	4 ccm Hammelserum No. II.		† 104—112 Std. Milz vergrössert, Ödem gering, zahllose Milzbr.-Bac.
4	360	2 ccm Hammelserum No. II.		† 80—88 Std. Typischer Befund.
5	390	8 ccm normal. Hammelserum.		Bleibt leben.
6	460	—		† 56—64 Std. Milz mässig geschwollen, Ödem, zahllose Milzbr.-Bac.

C. Mäuse.

No.	Vorbehandlung	Infektion	Bemerkungen
1	0,5 ccm Hammelserum No. II.	Nach 24 Std. 1/1000 Öse Milzbr. II. (unfiltr.)	† 26 Std. Typischer Befund.
2	0,4 ccm Hammelserum No. II.		† 32—40 Std. desgl.
3	0,3 ccm Hammelserum No. II.		† 29 Std. Milz sehr stark geschwollen, Milzbr.-Bac. spärl., nur in langen Fäden u. Schlingen.
4	0,2 ccm Hammelserum No. II.		† 32—40 Std. Milz vergröss., Bacillen spärl., Fäden und zahlreiche Granula.
5	0,1 ccm Hammelserum No. II.		† 32—40 Std. desgl.
6	0,5 ccm normal. Hammelserum.		† 29 Std. Milz kaum vergröss., zahlr. Bac., meist in Faden- und Schlingenform.
7	—		† 32—40 Std. Milz geschwoll., zieml. reichl. Bac., gequoll. Formen, Fäden, Schlingen.

Tab. XI.

Hammel II.

Datum	Temperatur Morgens	Temperatur Abends	Bemerkungen
17. Sept.		38,9	
18.	39,0	39,1	Körpergewicht: 37,2 kg.
19.	38,8	38,7	1/4 Öse Milzbr. II, unfiltr. Rückenhaut.
20.	38,6	38,7	Keine lokale Reaktion.
21.	39,5	39,4	Körpergewicht: 37,3 kg.
22.	39,6	39,5	
23.	39,0	39,2	
24.	39,1	39,1	
25.	39,2	39,3	
26.	39,3	39,4	1/20 Öse Milzbr. (Pasteur I. Vaccin., unfiltr. Bauchhaut.
27.	39,5	39,6	Keine lokale Reaktion.
28.	39,6	39,1	Körpergewicht: 39,2 kg.
29.	39,2	39,1	
30.	39,0	39,2	
1. Okt.	39,1	39,3	
2.	38,9	39,2	
3.	39,0	39,3	
4.	39,4	39,4	
5.	39,3	39,2	Körpergewicht: 39,85 kg.
6.	39,1	39,2	
7.	39,2	40,2	1/20 Öse Milzbr. (Pasteur II. Vaccin., unfiltr. Schenkelbeuge rechts.
8.	39,6	39,4	Infiltration an der Injektionsstelle.
9.	39,4	39,2	
10.	39,3	39,2	Infiltration fast völlig geschwunden, kleines hartes Knötchen fühlbar.
11.	39,1	39,3	
12.	39,2	39,1	Körpergewicht: 40,7 kg.
13.	39,3	39,3	
14.	39,2	39,2	
15.	39,3	39,2	
16.	39,3	39,6	
17.	39,3	39,5	
18.	39,5	39,3	
19.	39,5	39,8	1/100 Öse Milzbr. vir., unfiltr. Schenkelbeuge links
20.	39,6	39,2	Körpergewicht: 39,5 kg.
21.	39,3	39,2	Keine lokale Reaktion.
22.	39,0	39,2	
23.	39,1	39,1	
24.	39,4	39,1	
25.	39,5	39,3	Körpergewicht: 40,7 kg.
26.	39,4	39,2	
27.	39,1	39,5	1/20 Öse. Milzbr. vir., unfiltr. linke Bauchseite.
28.	39,9	39,8	Handtellergrosse weiche Schwellung an der Injektionsstelle.
29.	39,5	39,3	
30.	39,3	39,1	Infiltr. härter, aber von gleicher Ausdehnung.
31.	39,1	39,0	Körpergewicht: 41,5 kg.

Datum	Tempe[rature] Morgens
1. Nov.	39,3
2.	39,4
3.	39,1
4.	39,3
5.	39,3
6.	39,2
7.	39,3
8.	40,3
9.	39,7
10.	39,0
11.	39,5
12.	39,3
13.	39,5
14.	39,4
15.	40,0
16.	39,0
17.	39,3
18.	39,4
19.	39,3
20.	39.4
21.	39,5
22.	39,9
23.	39,5
24.	39,6
25.	39,4
26.	39,3
27.	39,3
28.	39,2
29.	39,8
30.	39,9
1. Dez.	39,5
2.	39,3
3.	39,2
4.	39,0
5.	39,1
6.	39,3
7.	39,2
8.	39,2
9.	39,0
10.	39,1
11.	39,0

Tab. XII.

Immunisierungsversuch mit dem Blutserum von Hammel No. I.
(Blutentnahme am 28. 11. 96.)

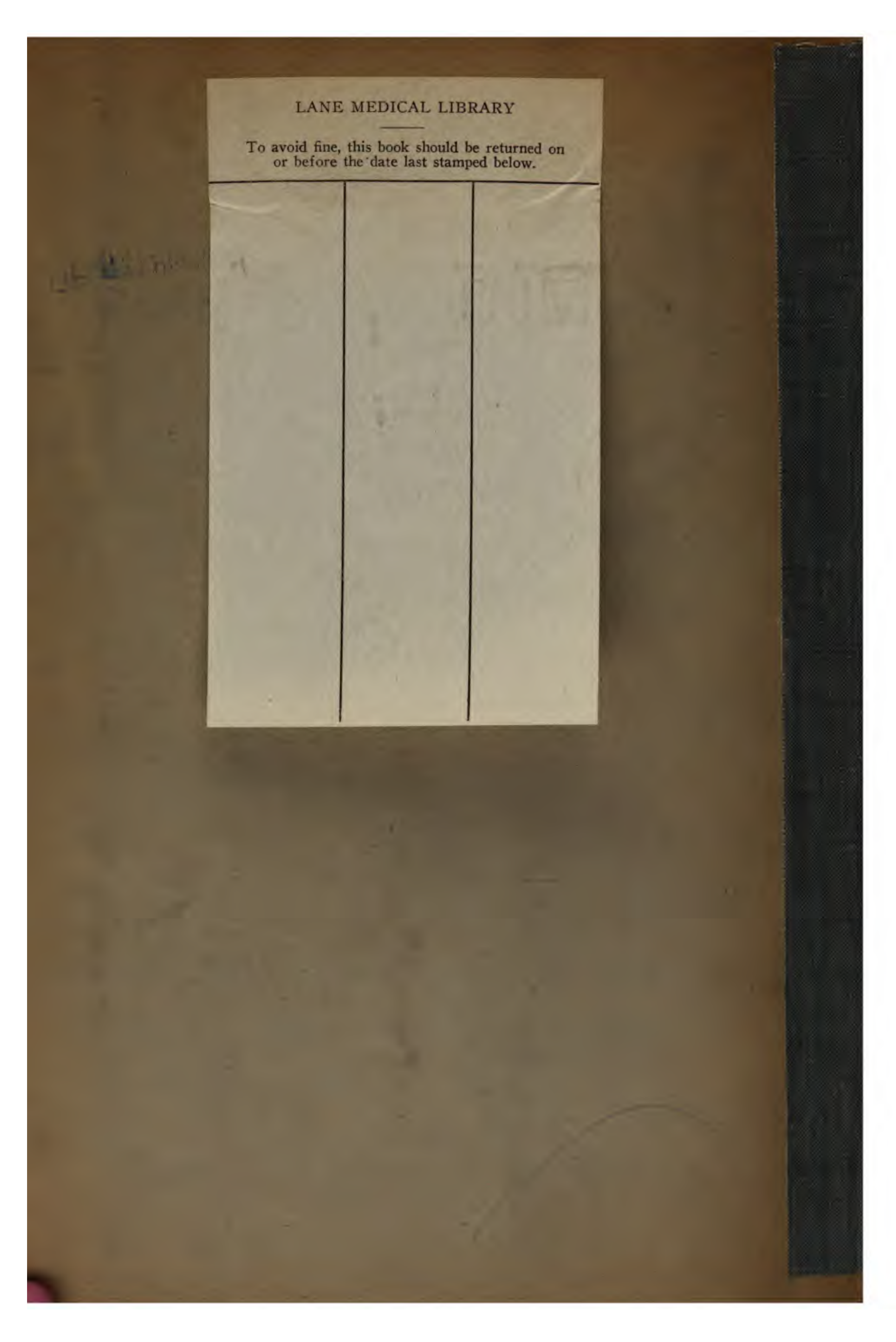
Kaninchen.

No.	Gewicht	Vorbehandlung		Infektion	Bemerkunge
1	1010	10 ccm	Hammelserum No. I	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 58—66 Std. Typischer
2	900	8 ccm	Hammelserum No. I	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 58—66 Std. desgl.
3	1130	6 ccm	Hammelserum No. I	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 80—88 Std. desgl.
4	1030	4 ccm	Hammelserum No. I	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 58—66 Std. Gewöhnl. gering, Bacillen ziemlic
5	1020	2 ccm	Hammelserum No. I	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 34—42 Std. Typischer
6	1470	8 ccm	Normal. Hammelserum	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 52 Std. desgl.
7	1480	4 ccm	Normal. Hammelserum	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 34—42 Std. desgl.
8	1240		—	Am nächsten Tage 1/100 Öse Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 34—42 Std. desgl.
9	1170	20 ccm	Hammelserum No. I, in zwei Portionen injiziert, die zweite Hälfte 3 Tage nach der ersten.	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 56—64 Std. Typischer
10	1160	16 ccm	Hammelserum No. I, in zwei Portionen injiziert, die zweite Hälfte 3 Tage nach der ersten.	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 56—64 Std. desgl.
11	1340	12 ccm	Hammelserum No. I, in zwei Portionen injiziert, die zweite Hälfte 3 Tage nach der ersten.	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 32—40 Std. Gewöhnl. Bei
12	1360	8 ccm	Hammelserum No. I, in zwei Portionen injiziert, die zweite Hälfte 3 Tage nach der ersten.	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 80—88 Std. Gewöhnl. Bac. in mässiger Zahl.
13	1170	4 ccm	Hammelserum No. I, in zwei Portionen injiziert, die zweite Hälfte 3 Tage nach der ersten.	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 32—40 Std. Typischer
14	1150	20 ccm	Normal. Hammelserum, gleichfalls in zwei Hälft. injiziert.	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 56—64 Std. desgl.
15	1170	8 ccm	Normal. Hammelserum, gleichfalls in zwei Hälft. injiziert.	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 56—64 Std. desgl.
16	1170		—	24 Std. nach der letzten Injektion 1/100 Öse. Milzbr. vir. (unfiltr.)	† 32—40 Std. desgl.

Tab. XVI.

Prüfung des Blutserums auf bactericide Wirkung.

Herkunft des Serums	Anzahl der Keime			
	Sofort	Nach 4 Std.	Nach 8 Std.	Nach 24 Std.
Rind I	120	800	Nicht zählbar	In allen Röhrch makroskopisch Wachstum festzustellen
Rind II	100	45	200	
Rind III	52	48	1820	
Rind IV	10	0	1260	
Rind VI	160	600	3450	
Rind, normal	180	140	250	
Hammel I	5000	2100	Nicht zählbar	desgl.
desgl.	120	150	Nicht zählbar	
Hammel II	4000	2900	Nicht zählbar	
desgl.	35	65	6000	
Hammel, normal	Nicht zählbar	4000	6000	
desgl.	850	4500	Nicht zählbar	
Kaninchen, normal	3000	135	500	desgl.
desgl.	450	35	100	
Kaninchen, immun, I	Nicht zählbar	35	70	
desgl.	3000	28	120	
Kaninchen, immun, II	Nicht zählbar	32	100	
desgl.	1500	80	300	



NAME	DATE DUE

